



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**FILOGEOGRAFIA DE POPULAÇÕES NATURAIS DO BURITI
(*Mauritia flexuosa* L. f., ARECACEAE) DO BRASIL CENTRAL**

NATÁCIA EVANGELISTA DE LIMA

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Rosane Garcia Collevatti

Abril - 2012

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Natácia Evangelista de Lima				
E-mail:	natevlima@gmail.com				
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não					
Vínculo empregatício do autor					
Agência de fomento:					Sigla:
País:		UF:		CNPJ:	
Título:	Filogeografia de populações naturais do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f., Arecaceae) do Brasil Central				
Palavras-chave:	Áreas alagadas, vereda, Cerrado, Savana neotropical				
Título em outra língua:	Phylogeography of natural populations of buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f., Arecaceae) from Central Brazil				
Palavras-chave em outra língua:	Wetlands, vereda, Cerrado, neotropical savanna				
Área de concentração:	Genética e genômica de plantas				
Data defesa: (23/04/2012)	23/04/2012				
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoria de Plantas				
Orientador (a):	Rosane Garcia Collevatti				
E-mail:					
Co-orientador (a):*					
E-mail:					

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☐ SIM ☒ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

NATÁCIA EVANGELISTA DE LIMA

**FILOGEOGRAFIA DE POPULAÇÕES NATURAIS DO BURITI
(*Mauritia flexuosa* L. f., ARECACEAE) DO BRASIL CENTRAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Rosane Garcia Collevatti

Goiânia, GO - Brasil
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG/mr

L732f Lima, Natácia Evangelista de.
 Filogeografia de populações naturais do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) do Brasil Central [manuscrito] / Natácia Evangelista de Lima. - 2012.
 73 f. : il., figs, tabs.

 Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosane Garcia Collevatti.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 2012.
 Bibliografia.
 Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

 1. Palmeira – Arecaceae (Buriti). 2. Plantas – Brasil.

CDU: 582.521.11

NATÁCIA EVANGELISTA DE LIMA

TÍTULO: Filogeografia de populações naturais do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) do Brasil Central.

Dissertação DEFENDIDA em 23 de Abril de 2012, e APROVADA pela Banca Examinadora constituída pelos membros:



Prof.^a, Dr.^a. Rosane Garcia Collevatti
Orientadora – EA/UFG



Prof. Dr. Alexandre Siqueira Guedes Coelho
EA/UFG



Prof. Dr. Lúcio Flávio de Alencar Figueiredo
UNB

Goiânia - Goiás
Brasil

“Pergunto coisas ao buriti; e o que ele responde é: a coragem minha. Buriti quer todo azul, e não se aparta de sua água – carece de espelho. Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende...”

João Guimarães Rosa - Grande Sertão:
Veredas.

Dedico à Rosane Garcia Collevatti a quem há
tempos anelava obter os resultados deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para que este trabalho fosse realizado:

A Deus, em primeiro lugar, que na minha visão, não está dissociado da ciência;

Aos meus pais, pela doação da vida;

À Rosane Garcia Collevatti pela orientação e paciência;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida;

Ao Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas da UFG por ter cedido gentilmente o uso do sequenciador;

Ao Laboratório de Genética & Biodiversidade da UFG pelo espaço e material de trabalho, mas principalmente pelas pessoas com as quais pude conviver. Cada aluno, professor e técnico deixou grande aprendizado; pelas amizades construídas, pela convivência gostosa proporcionada por muitos que ali trabalham;

Às colaboradoras Priscilla Mello e Carla Faleiro Tinoco, pelo crescimento pessoal que pude obter no convívio diário;

À Suelen Rabelo pelo auxílio nas técnicas de laboratório e aprendizado;

À Ludymila Guedes, Rodrigo de Melo e Tiago Carrijo pela ajuda no trabalho e mais que isso, pela amizade que temos;

Ao Advaldo Carlos de Souza Neto, pelo companheirismo desde a graduação. Amigo não é a colocação mais adequada, mas sim um irmão que a vida me presenteou.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	CARACTERIZAÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO DAS PALMEIRAS (ARECACEAE)	11
2.2	<i>MAURITIA FLEXUOSA</i> L. F.: UMA PALMEIRA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, ECOLÓGICA E CULTURAL	14
2.3	ASPECTOS BIOGEOGRÁFICOS DE <i>MAURITIA FLEXUOSA</i> L. F.	20
2.4	CONCEITOS GERAIS	28
2.5	ASPECTOS GERAIS DA FILOGEOGRAFIA	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1	ÁREAS DE ESTUDO	34
3.2	EXTRAÇÃO DE DNA E SELEÇÃO DAS REGIÕES CLOROPLASTIDIAIS ..	36
3.3	OBTENÇÃO DOS DADOS MOLECULARES	38
3.4	CARACTERIZAÇÃO DAS SEQUÊNCIAS	39
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5	CONCLUSÃO	62
6	REFERÊNCIAS	63

RESUMO

LIMA, N. E. **Filogeografia de populações naturais do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) do Brasil Central**. 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.¹

Mauritia flexuosa, popularmente conhecida como buriti, é uma grande palmeira que ocorre especialmente em associação com áreas alagadas (veredas) na América do Sul. Destaca-se pela importância econômica para as populações locais do Brasil Central e como fonte de alimento, local de reprodução e refúgio para fauna terrestre e aquática. O efeito de eventos históricos, demográficos e das flutuações climáticas sobre a distribuição do buriti pode gerar pistas sobre as possíveis respostas desta espécie à pressão antrópica e a mudanças climáticas. Para tanto foi estudada a filogeografia de *M. flexuosa*. Os resultados foram baseados no polimorfismo das seguintes regiões cloroplastidiais intergênicas: *psbA-trnH*, *trnC-ycf6* e *trnS-trnG*. Foram amostrados 170 indivíduos de 14 localidades distribuídas pelo Brasil Central, incluindo populações nas Bacias: Amazônica, do Araguaia-Tocantins, do Paraná e do São Francisco. Como a distribuição de *M. flexuosa* é restrita a regiões alagáveis rodeadas por grandes áreas de terras secas, que podem atuar como barreiras ao fluxo gênico, hipotetiza-se que as populações de buriti de cada bacia hidrográfica sejam altamente diferenciadas, uma vez que estas bacias devem se comportar como quebras filogeográficas. Os dados combinados para as três regiões cloroplastidiais geraram um fragmento de 1205 pb com 11 haplótipos. A diversidade nucleotídica foi baixa ($\pi = 0,005314 \pm 0,002800$) e a diversidade haplotípica foi elevada ($h = 0,791$) para os dados combinados. O padrão encontrado para o parâmetro demográfico θ e para as diversidades nucleotídica e haplotípica por população mostra regiões geográficas com uma relativa uniformidade genética, separadas por quebras abruptas nas diversidades caracterizando uma colonização por setores. A diferenciação entre populações foi significativa ($P < 0,001$) e não há sinal de retração recente no tamanho das populações seguido por expansão (D de Tajima = $-1,955$ $p = 0,00210$; Distribuição de *mismatch* = $0,034$ $p = 0,7467$ e parâmetro de crescimento $g = 402,402$, ICred95% = $-334,961$, ICred95% = $999,91$). Foram encontrados agrupamentos distintos por localidade na análise filogenética (*programa Network*), porém eles não suportam a hipótese inicial de que as principais bacias hidrográficas formam quebras filogeográficas importantes para distribuição das linhagens maternas de *M. flexuosa*. As populações estudadas apresentaram tempos de coalescência antigos. Essa pesquisa gerou mais detalhes sobre a dinâmica e estrutura genética nos remanescentes das populações de buriti, auxiliando a entender melhor a história evolutiva para esta palmeira neotropical.

Palavras-chave: Áreas alagadas, vereda, Cerrado, Savana neotropical.

¹Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosane Garcia Collevatti. ICB-UFG.

ABSTRACT

LIMA, N. E. **Phylogeography of natural populations of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) from Central Brazil**. 2012. 73 p. Dissertation (Master in Genetics and Plant Breeding) Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.¹

Mauritia flexuosa, popularly known as buriti, is a large palm that occurs especially in association with wetlands (veredas) in South America. It is distinguished because of its economic importance for local populations from Central Brazil, and as source of food, breeding site and haven for the terrestrial and aquatic fauna. The effect of historical demographic events and climatic fluctuations in the current distribution of buriti can provide clues about the responses of this species to anthropic pressures and to future climatic changes. For this purpose we studied the phylogeography of *M. flexuosa*. The results were based on the differences of sequences from the following chloroplast intergenic regions: *psbA-trnH*, *trnC-ycf6* and *trnS-trnG*. We sampled 170 individuals from 14 localities throughout Central Brazil, including populations in the Amazon, Araguaia/Tocantins, Paraná and São Francisco Basins. Since the distribution of *M. flexuosa* is restricted to wetlands, which are surrounded by large areas of dry lands that may act as barriers to gene flow, we hypothesized that populations are highly differentiated and that River Basins act as phylogeographic breaks. The combined data from the three sequence regions generated a fragment of 1205bp, with 11 haplotypes. Nucleotide diversity was low ($\pi = 0.005314 \pm 0.002800$) and haplotypic diversity was high ($h = 0.791$) for the combined data. The population parameter θ , and nucleotide and haplotype diversity per population, shows a pattern where populations from different geographic regions have a relative genetic uniformity, separated by steep losses on the diversity; what characterizes colonization by sectors. Differentiation among populations was significant ($P < 0.001$), but no sign of recent bottleneck on population size followed by expansion was found ($D_{Tajima} = -1.955$ $p = 0.00210$; Mismatch Distribution = 0.034 $p = 0.7467$ and growth parameter $g = 402.402$, 95% = -334.961 ICredi, ICreds 95% = 999.91). We could group populations by location in the phylogenetic analysis (Network software), but they do not support the initial hypothesis that the major basins act as important phylogeographic breaks for the distribution of maternal lineages of *M. flexuosa*. The studied populations showed ancient time of coalescence. This research provided more details on the dynamics and genetic structure of the remnant of buriti populations, helping to elucidate the evolutionary history of this neotropical palm.

Keywords: Wetlands, vereda, Cerrado, neotropical savanna.

¹Adviser: Prof. Dr^a. Rosane Garcia Collevatti. ICB-UFG.

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Mauritia flexuosa* Linnaeus filius pertencente à família Arecaceae é conhecida popularmente por buriti. É uma palmeira de grande porte, de presença marcante no Cerrado por ocorrer principalmente em associação com nascentes de água, em formações conhecidas como veredas (Henderson et al., 1995a). Inúmeros produtos úteis desta palmeira são aproveitados pelas populações locais do Brasil Central, tanto para alimentação quanto em atividades de importância econômica. Destaca-se o uso das folhas para confecção de utensílios e artesanatos, os frutos para produção de doces, licor, óleo e o uso da madeira para fabricação de móveis (Felfili et al., 2004; Martins et al., 2010). Além da importância para o homem, o buriti exerce um papel fundamental na manutenção do sistema hídrico das veredas, e na fauna terrestre e aquática do cerrado, funcionando como refúgio, abrigo, fonte de alimento e local de reprodução (Villalobos, 1994).

Por ter uma distribuição restrita a regiões alagáveis, rodeadas por grandes áreas de terras secas, que podem atuar como barreiras ao fluxo gênico, hipotetiza-se que as populações de buriti de cada bacia hidrográfica sejam geneticamente diferenciadas, uma vez que estas bacias devem se comportar como quebras filogeográficas. Adicionalmente, as oscilações climáticas que ocorreram durante o Terciário e o Quaternário afetaram a distribuição das espécies, influenciando os eventos de extinção de populações locais e, concomitantemente, estimulando os processos evolutivos e a especiação de alguns grupos (Hewitt, 2000). A literatura mostra pelo registro fóssil de pólen que *M. flexuosa* sofreu os efeitos das flutuações climáticas do Terciário e Quaternário em sua distribuição com redução nos registros de pólen das espécies nos períodos frios e secos do Glacial (Ferraz-Vicentini & Salgado-Labouriau 1996; Salgado-Labouriau et al., 1997; Rull, 1998; Burnham & Graham, 1999; Barberi et al., 2000). Assim, o conhecimento dos eventos históricos, demográficos e as flutuações climáticas que influenciaram a distribuição atual de *M. flexuosa* são importantes, pois geram informações que contribuem para entender a história evolutiva e as possíveis respostas da espécie perante as pressões ambientais atuais.

O presente trabalho teve por objetivo estudar a estrutura genética e a filogeografia de *M. flexuosa*, baseado no polimorfismo de três regiões cloroplastidiais

intergênicas, de populações distribuídas no Brasil Central nas Bacias Hidrográficas: Amazônica, do Araguaia/Tocantins, do Paraná e do São Francisco. Com base nos padrões filogeográficos identificados, e nos tempos estimados de divergência das linhagens, foram levantados na literatura os eventos climáticos e geomorfológicos que podem ter influenciado a formação dos padrões históricos e demográficos observados. Estima-se que o Brasil apresente 29 gêneros e 132 espécies de palmeiras (Lorenzi et al., 2004) e até o presente momento não há na literatura estudos filogeográficos sobre as palmeiras do país, sendo este um estudo pioneiro e de relevância no que diz respeito a compreensão da história evolutiva de uma espécie de palmeira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERIZAÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO DAS PALMEIRAS (ARECACEAE)

As palmeiras (Arecaceae) são o símbolo dos trópicos, e uma das mais distintas dentre as plantas que florescem. Essa família possuiu uma surpreendente diversidade morfológica e ecológica. Ela apresenta as maiores folhas, hastes aéreas e inflorescências dentre as espécies de plantas (Dransfield et al., 2008). Muitas espécies de palmeira desempenham um papel vital na economia mundial, fornecendo importantes produtos como óleos, amido e açúcar, e são significativamente importantes na indústria de cultivo de plantas. Apresentam também grande importância econômica tanto no cenário internacional (ex: óleo do fruto, castanha, móveis, cosméticos), quanto para subsistência de algumas comunidades do mundo (Dransfield et al., 2008). Ocorrem naturalmente em diferentes ambientes e são também cultivadas em jardins, canteiros e avenidas de cidades. Fornecem alimento para diversos animais, como mamíferos, tucanos, papagaios, peixes e diversos insetos, representando o principal alimento das dietas de muitos destes (Martins et al., 2010).

A família Arecaceae insere-se dentro do clado das monocotiledôneas. Vários estudos são concordantes quanto ao monofiletismo do grupo (Asmussen & Chase, 2001; Asmussen et al., 2005; Baker, et al., 1999a; Baker, et al., 2009; Chase et al., 2006; Hanh, 2002; Dransfield, et al., 2008) (Figura 1). São reconhecidas hoje cerca de 2600 espécies reunidas em mais de 240 gêneros, distribuídos em cinco subfamílias: Calamoideae, Nypoideae, Coryphoideae, Ceroxyloideae e Arecoideae (Dransfield, et al., 2005). As palmeiras são conhecidas ao que diz respeito a seu registro fóssil, com fósseis da Europa e América do Norte datando do último Cretáceo (90 Mya) (Soltis et al., 2005). Algumas espécies de palmeiras, que hoje estão limitadas às regiões da Ásia tropical, ocorriam na Europa Ocidental no Oligoceno e Mioceno. Atualmente diversas espécies ainda são encontradas fora das regiões subtropicais, mas a distribuição predominantemente dessa família é tropical (Lorenzi et al., 2004).

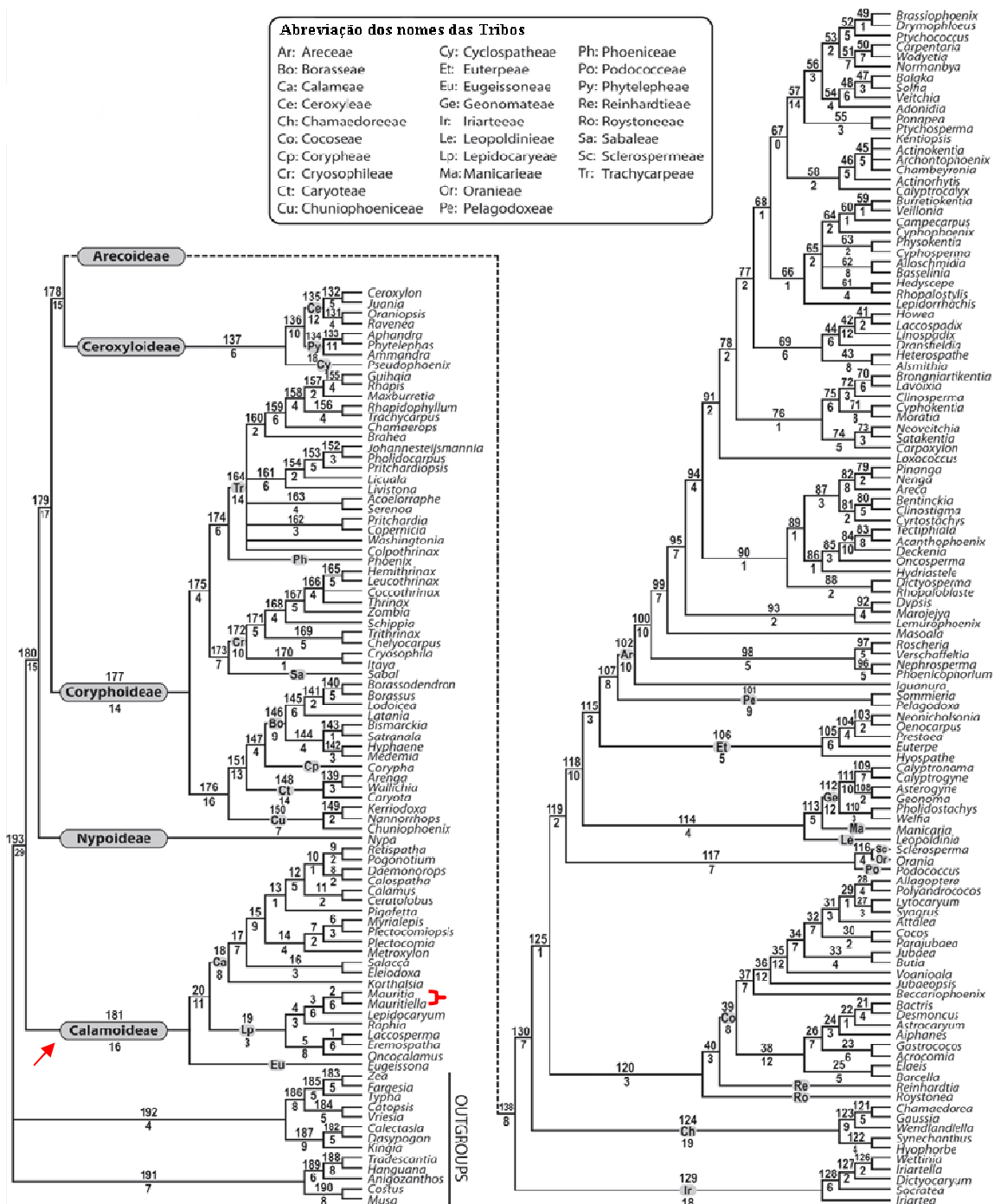


Figura 1. Árvore filogenética resultado da combinação de cinco regiões cloroplastidiais (*rps16*, *matK*, *trnL-trnF*, *trnD-trnT*, *trnQ-rps16*) gerada pelo consenso de 5000 superárvores e pelo método de análise supermatriz. Os números acima dos ramos são o número de clados e os que seguem abaixo dos ramos indicam o número de árvores que suportam o clado dado. As subfamílias das palmeiras e tribos estão indicadas (Fonte: Baker et al., 2009). A seta vermelha indica a subfamília à qual a espécie estudada neste trabalho pertence

Dentre as monocotiledôneas o registro fóssil da família Arecaceae é o mais rico e amplo, sendo o mais antigo datado de antes do Tutoriano (89-93.5 Ma) (Soltis et al.,

2005; Harley, 2006) aparentemente substituindo as coníferas do Cenomaniano (Cretáceo) (Coiffard & Gomez, 2010). Cronologicamente, a expansão e retração da distribuição dos registros fósseis de palmeiras em altas latitudes é um importante indicador de eventos históricos e oscilações climáticas ocorridas durante o Terciário/Quaternário (Harley, 2006). O registro fóssil sugere que as subfamílias de palmeiras Coryphoideae, Arecoideae, Nypoideae e Calamoideae apresentam linhagens evolutivas distintas em cerca de ≥ 60 Ma (Wilson et al., 1990), e mostra um aumento gradual na diversidade de palmeiras ao longo do tempo (Harley, 2006). Entretanto, apesar da grande quantidade de fósseis encontrados, existe a dificuldade em identificá-los taxonomicamente devido às poucas variações morfológicas neles encontradas e a maioria dos descritos pertencerem ao gênero *Palmoxylon* (Harley, 2006).

Inúmeros trabalhos demonstram que o genoma cloroplastidial das palmeiras é altamente conservado e, conseqüentemente, apresenta muitas regiões cloroplastidiais não informativas e com baixo polimorfismo (Wilson et al., 1990; Gaut et al., 1992; Gaut et al., 1996; Eyre-Walker & Gaut, 1997; Asmussen & Chase, 2001; Baker, et al., 1999a; Chase et al., 2006; Dransfield, et al., 2009). Wilson et al. (1990), por meio da técnica RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*) propõem que a taxa total de substituição de nucleotídeos em DNA cloroplastidial é cerca de oito vezes mais baixa em palmeiras do que em gramíneas. Em um estudo considerando o gene cloroplastidial codificante *rbcL* foi encontrado uma taxa de substituição, para as palmeiras, cinco vezes mais lenta do que para gramíneas (Gaut et al., 1992; Gaut et al., 1996). A grande diferença encontrada nas taxas de substituição de bases entre as palmeiras e gramíneas pode ser consequência do efeito do tempo de geração nas taxas de evolução do DNA cloroplastidial. Verifica-se o tempo maior de reprodução em plantas perenes, de longa vida, quando comparada com as anuais, pode ser o motivo das diferenças das taxas de substituição de base (Wilson et al., 1990; Gaut et al., 1992; Gaut et al., 1996).

Gaut et al. (1996) desenvolveram um estudo comparativo para obter a taxa de substituição de nucleotídeos em palmeiras e gramíneas considerando o gene nuclear *Adh*, e revelaram uma taxa de substituição 2,5 vezes mais lenta em palmeiras do que em gramíneas, muito menor do que a encontrada para a maioria dos genes nucleares de plantas. Um estudo filogenético para a subfamília Calamoideae, utilizando sequências de DNA da região intrônica cloroplastidial *rps16*, mostrou que a região cloroplastidial possui baixas taxas de variação, corroborando o que já era previsto para o genoma cloroplastidial

conservado de palmeiras (Baker et al., 2000). Neste mesmo trabalho os autores utilizaram o espaçador nuclear ribossomal transcrito (ITS) e encontraram altos níveis de polimorfismo e homoplasia, verificando que a evolução em concerto não é efetiva na homogeneização das repetições do ITS, gerando topologias duvidosas (Baker et al., 2000). Essa tendência a homogeneização das sequências gênicas sob influência de mecanismos que operam homogeneizando as por meio de conversão gênica e *crossing over* desigual é conhecida por evolução em concerto (Hartl & Clark, 2010). Nesta situação a família multigênica evolui junto, em concerto, compartilhando as mesmas substituições mutacionais que discriminam uma espécie de outra (Templeton, 2006).

A conversão gênica é um processo no qual uma quebra de fita dupla no DNA é reparada pelo pareamento nucleotídico entre dois genes suficientemente similares (não necessariamente seu homólogo), acompanhada pela ressíntese de uma porção da sequência alvo, resultando na substituição da sequência no sítio original pelo molde invasor. Formalmente, o resultado é que a sequência de um gene “converte” a sequência do outro gene para torná-la exatamente igual a ela (Hartl & Clark, 2010). No *crossing over* desigual, os dois cromossomos não trocam segmentos iguais de DNA e um recebe maior quantidade de material genético que outro, resultando em um aumento do número de cópias em um cromossomo e em uma redução correspondente no número de cópias do outro (Ridley, 2006).

2.2 MAURITIA FLEXUOSA L. F.: UMA PALMEIRA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, ECOLÓGICA E CULTURAL

A espécie *M. flexuosa*, conhecida popularmente como “buriti”, “miriti”, “buritizeiro” e “carandá-guaçu”, (Lorenzi et al., 2004) pertence à família Arecaceae, (Dransfield et al., 2005). Os índios a conhecem por “Árvore da Vida” e o Sertanejo por “Palmeira de Deus” (conhecimento popular). É considerada a palmeira mais abundante do Brasil (Lorenzi, 1992; Lorenzi et al., 2004). Até o momento há poucas informações a respeito do genoma para as espécies de palmeiras. No sítio do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) estão disponíveis o número de cromossomos para *Cocos nucifera* (16) e *Elaeis guineensis* (16). Para *M. flexuosa* estão depositados no *Genbank* as sequências de microssatélites desenvolvidas por Federman et al. (2011), sequências parciais do espaçador inter gênico trnD-trnY e trnE-trnT, e sequências

completas dos genes tRNA-Tyr, tRNA-Glu, e do espaçador inter gênico trnY-trnE obtidas para os trabalhos de filogenia de Baker e colaboradores.

Mauritia flexuosa é uma palmeira dióica e com folhas flebeliformes; quando adultas, são caracterizadas por serem altas, com até 30m e 20-50 cm de diâmetro, de caule solitário e liso (Figura 2). No Cerrado, floresce nos meses de março a maio e apresenta frutos quase o ano todo (Martins et al., 2010). Os frutos castanho-avermelhados, oblongo-globosos, medindo cinco centímetros por quatro centímetros, epicarpo coberto por escamas sobrepostas de cerca de seis milímetros, mesocarpo carnoso, contendo normalmente uma semente (Lorenzi et al., 2004; Martins et al., 2010). As sementes de *M. flexuosa* podem ser classificadas como recalcitrantes e a emergência das plântulas se dá entre três e quatro meses após a sementeira. As plântulas são de crescimento lento e a produção dos frutos pode levar entre sete a oito anos (Paula-Fernandes, 2001). É polinizada por coleópteros das famílias Nitidulidae, Curculionidae e Cucujidae (Storti, 1993).



Figura 2. *Mauritia flexuosa*. A, F, G e H- Frutos de *M. flexuosa* (fonte: A - Fernando Tatagiba; F-Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006; G - Tiago Carrijo; H-Globo Rural, 2009), B- Inflorescência feminina, C- Inflorescência masculina (fonte: B e C- Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006), D- Exemplar de *M. flexuosa* e E- Buritizal com representantes da espécie (fonte:www.pirenopolis.tur.br, 2012)

Mauritia flexuosa apresenta ampla distribuição geográfica na América do Sul. Esta espécie está presente em algumas regiões da Amazônia brasileira e Cis-Andina, na Colômbia e na Venezuela, em regiões alagadas conhecidas como *Morichales*, no Peru, nos *Aguajales*, e ainda em áreas alagadas no Nordeste do Brasil (nos limites da Caatinga) e no Cerrado do Brasil Central, conhecidas por Veredas (Lorenzi, 1992; 2004; Henderson, 1995a; 1995b) (Figura 3). O Cerrado é uma formação savânica e ocupa uma área de aproximadamente dois milhões de km², correspondente à aproximadamente 23% do território brasileiro, distribuído principalmente no Planalto Central (Ratter et al., 1997) (Figura 3).

A formação savânica caracterizada pela presença marcante de uma única espécie de palmeira arbórea é denominada Palmeiral. Nesta fitofisionomia praticamente não existem árvores dicotiledôneas, embora estas possam ocorrer com frequência baixa. Os Palmeirais ocorrem em solos mal drenados (brejosos), presentes ao longo dos fundos de vales do Brasil Central, quase sempre são dominados pela espécie *M. flexuosa* (buriti), e caracterizam o Buritizal. Em certos casos também podem estar presentes outras espécies de palmeiras em pequena densidade, como *Mauritiella armata* (buritirana) (Ribeiro & Walter, 1998). No Buritizal há formação de dossel, ainda que descontínuo, e não há uma vegetação arbustivo-herbácea associada da maneira típica, como ocorre nas veredas (Ribeiro & Walter, 1998).

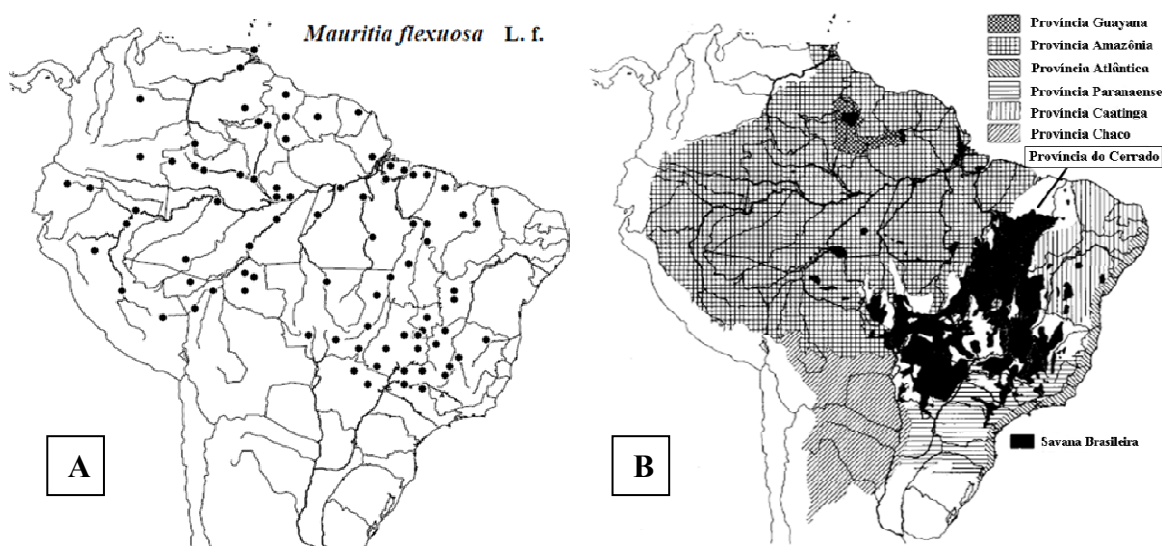


Figura 3. A- Mapa da distribuição geográfica de *Mauritia flexuosa* na América do Sul (Fonte: Oliveira-Filho & Ratter, 1995); B- Mapa mostrando a distribuição da savana brasileira de acordo com o IBGE (1993), com as sete províncias fitogeográficas a leste da América do Sul de acordo com Cabrera & Willink (1973) (Fonte: Oliveira-Filho & Ratter, 1995)

A Vereda também é uma fitofisionomia caracterizada pela presença de *M. flexuosa*, que aparece em meio a agrupamentos mais ou menos densos de espécies arbustivo-herbáceas. São, em geral, circundadas por vegetação de campo dominada por espécies das famílias Cyperaceae e Gramineae (Silva-Júnior & Felfili, 1996), e os representantes de *M. flexuosa* não formam dossel como ocorre no Buritizal (Ribeiro & Walter, 1998). As Veredas são formações perenifólias dominadas por espécies adaptadas para o desenvolvimento em solos permanentemente alagados e, normalmente ocorrem em áreas planas ao longo de cursos d'água, ou, em áreas de nascentes. São consideradas bacias coletoras das águas absorvidas pelos platôs adjacentes, funcionando como vias de drenagem. Pelo seu aterro gradual, aliado ao tipo de solo e a umidade existente, transformam-se gradativamente em uma forma típica de floresta, com espécies características de porte não muito desenvolvido, conhecidas como “matas-do-alagado” (Ferreira, 1980).

Os buritis são indicadores ecológicos da presença de água na superfície, como também em solos mal drenados e encharcados. São frequentemente associados à existência de nascentes e poços d'água e dependem da água para sua dispersão e germinação. A principal ameaça ao buriti é a devastação do seu *habitat*, que vem sendo degradado pelas ações do ser humano, como a exploração de argila, a expansão da fronteira agropecuária, o avanço da urbanização, a construção de estradas e canais de drenagem e a exploração não sustentável da flora local (Araújo et al., 2002; Ramos et al., 2006). As consequências têm sido desastrosas para as veredas, como os assoreamentos, o ressecamento dos solos, a diminuição do volume hídrico, a erosão e a perda da biodiversidade (Araújo et al., 2002). É frequente observar, próximo as veredas, lavouras e queimadas, tendo como consequência perda de água, morte dos buritis e comprometimento das novas gerações da espécie (Martins et al., 2010).

Inúmeros produtos úteis do buritizeiro são aproveitados pelas populações locais do Brasil Central, tanto para sua alimentação como sustento em atividades de importância econômica e cultural (Figura 4). Destaca-se o uso das folhas para a cobertura de habitações rústicas; para confecção de utensílios, tecidos, cordas, redes, chapéus, bolsas e artesanato (Sampaio et al., 2008; Nascimento et al., 2009; Nascimento, et al., 2010; Martins, et al., 2010; Martins, et al., 2011). O fruto do buriti é castanho avermelhado, coberto por escamas, com poupa amarela e rica em cálcio e vitamina A e com ele são preparados doces, sorvetes, cremes, geléias, licores, vitaminas, “vinho de buriti” e óleos

(Almeida, 1998; Nascimento et al., 2009; Sampaio et al., 2008). O óleo do buriti é rico em carotenóides e tem sido usado frequentemente na produção de cosméticos (Zanatta et al., 2010). A forma de exploração do buriti é o extrativismo e ainda não são conhecidos plantios comerciais de buriti. Praticamente não há trabalhos que contabilizem a importância que o extrativismo desempenha na formação econômica social do Cerrado (Martins et al., 2010). Em 2004, em Belém, 100 mililitros de óleo de buriti eram vendidos por R\$ 5; o quilo da polpa valia R\$ 8; e um paneiro com 15 frutos custava R\$ 1. Entre 1997 e 1998, 20 frutos custavam R\$ 0,50 (Cymerys et al., 2005).

Para as culturas indígenas na Amazônia, as palmeiras são consideradas as plantas mais importantes (Henderson et al., 1995b). Na região do Cerrado não é diferente, indígenas e kalungas (comunidade tradicional de descendentes africanos) também fazem uso dos produtos das palmeiras nas suas diversas formas, como na construção, alimentação, artesanato, medicina e rituais (Nascimento et al., 2010). A comunidade de kalungas Engenho II, de Cavalcante, Goiás, considera o buriti a palmeira de maior destaque, devido às necessidades da comunidade (Martins et al., 2011). Destaca-se a utilização do buriti na cultura indígena, nas corridas com os troncos, que são competições durante os rituais, onde os índios correm carregando toras pesadas. Isso é visto culturalmente como importante para o exercício físico que os prepara para atividade de caça e para a guerra (Nascimento et al., 2009) (Figura 4).



Figura 4. *Mauritia flexuosa* na cultura. A, D e E- Artesanato produzido com as folhas do buriti (fonte: A e D- SEBRAE; E- Jaime Gesisky, 2008), B- Cobertura de habitação com folhas de buriti (fonte: Martins et al., 2008), C- Móvel produzido a partir do tronco do buriti (fonte: TV ecorural), F- Cosmético produzido a partir do fruto do buriti (fonte: Natura cosméticos), G- Produção artesanal do óleo de buriti (Martins et al., 2008), H- Doce de buriti (fonte: Gourmandise), I e J- Corrida indígena com os troncos de buriti (fonte: I- Ernesto Rodrigues, 2008; J- Marília França, 2007)

O buriti exerce papel fundamental na manutenção da fauna do Cerrado, funcionando como local de pouso, alimentação e reprodução para a avifauna (Villalobos 1994; Brightsmith & Bravo, 2006; Nunes & Santos Júnior, 2011). Ele também funciona como refúgio, abrigo, fonte de alimento e local de reprodução para a fauna terrestre e aquática (Gurgel-Gonçalves et al., 2006; Andreazzi et al., 2009) (Figura 5). As araras e papagaios (Psittacidae) fazem seus ninhos em buracos no tronco ou na copa das palmeiras sendo que as cavidades existentes nos buritis representam os únicos locais com características adequadas para a reprodução de algumas espécies de aves de porte médio e grande (Brightsmith & Bravo, 2006; Tubelis, 2009).

O buriti é componente da dieta de várias espécies da fauna, principalmente pela grande oferta de frutos durante quase todo o ano (Villalobos, 1994). Muitas dessas espécies, principalmente mamíferos, funcionam como agentes dispersores de buriti: *Alouatta seniculus* (guariba vermelho), *Agouti paca* (paca); *Ateles belzebuth* (macaco-aranha), *A. chamek* (macaco-aranha), *Cebus apella* (macaco-prego), *C. albifrons* (macaco caiarara), *Didelphis albiventris* (gambá-de-orelha-branca), *Lagothrix lagotricha* (macaco-barrigudo), *Nasua nasua* (quati), *Nectomys squamipes* (rato d'água), *Oligoryzomys* sp. (camundongo-do-mato), *Oxymycterus roberti* (rato-porco), *Tapirus terrestris* (anta), *Tayassu pecari* (queixada), *Tayassu tajacu* (porco-do-mato) (Villalobos, 1994; Aquino & Bodmer, 2004).

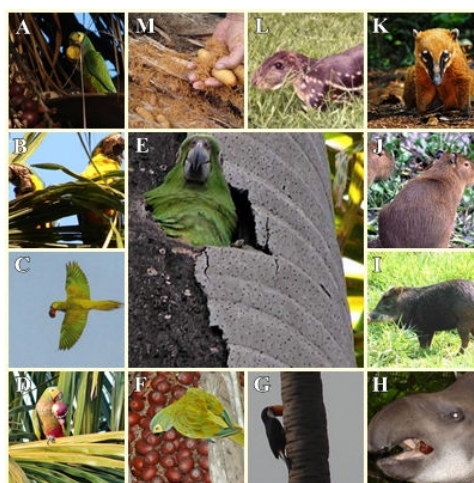


Figura 5. Exemplos de animais que se alimentam de *Mauritia flexuosa*. A, B, C, D, E, F e G- Avifauna (fonte: A- P.B.M; B- Alexssander Alvarenga C, E- Arboretto, D- Marcelo Camacho; F- Tiago, 2010; G- A. A. M.), H- Anta, I- Queixada, J- Capivara, K- Quati, L- Paca (fonte: H- Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006; J- Carlos Ravazzani; I-Rodrigo Z. Daminano; J-; K- Giselda Person; L- www.cpt.com.br, 2010) e M- larvas de coleóptero no tronco em decomposição (Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, 2006)

2.3 ASPECTOS BIOGEOGRÁFICOS DE *MAURITIA FLEXUOSA* L. F.

A espécie *Mauritia flexuosa*, pertence à família Arecaceae, subfamília Calamoideae, tribo *Lepidocaryeae* e subtribo *Mauritiinae* (Dransfield et al., 2005). A família Arecaceae pertence à ordem Arecales, em que esta organização é mantida desde a primeira publicação do Grupo de Filogenia das Angiospermas (APG I, 1998) até a última revisão (APG III, 2009). As análises filogenéticas para a família Arecaceae, tanto com dados moleculares quanto morfológicos, apresentam um forte suporte para monofilia da subfamília Calamoideae (Baker et al., 1999; 2000; 2009; Asmussen et al., 2000; Hahn, 2002; Asmussen & Chase, 2001; Baker et al., 2009) (Figura 6). Essa subfamília é considerada como basal dentro da família, aparecendo como grupo irmão das demais subfamílias (Chase, 2001; Hahn, 2002; Asmussen et al., 2006; Baker et al., 2009) (Figura 1).

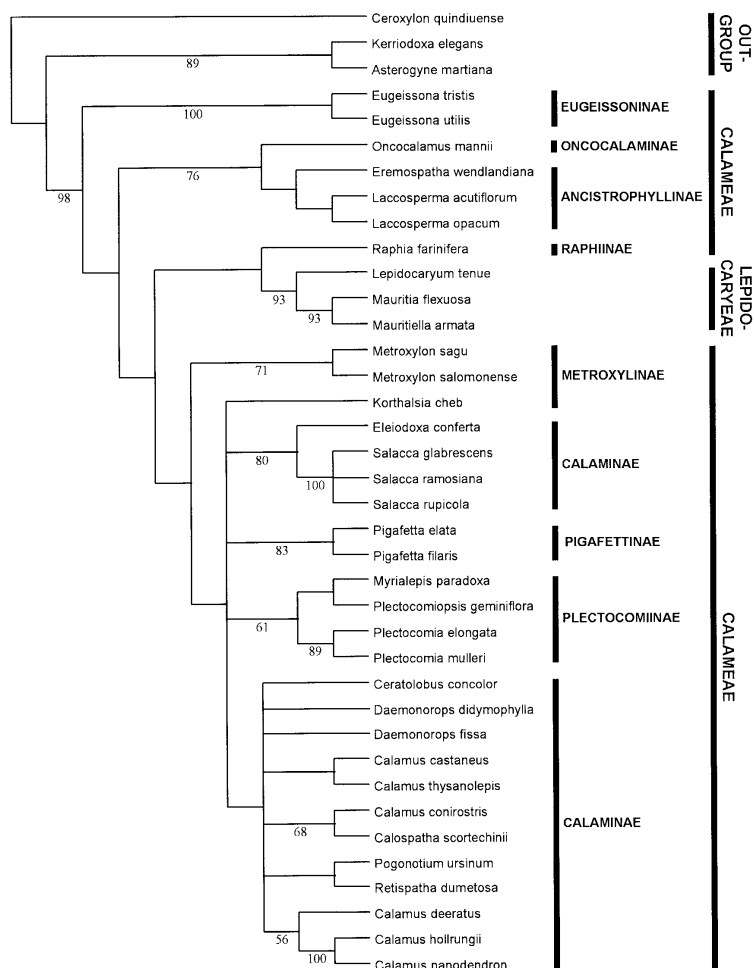


Figura 6. Árvore filogenética da subfamília Calamoideae apresentando forte suporte para monofilia. A árvore foi gerada pelo consenso das 10 árvores igualmente mais parcimoniosas para a região cloroplastidial *rps16*. Os números abaixo dos ramos representam os valores de suporte de *Jackknife* (Fonte: Baker et al., 2000)

Análises filogenéticas para a subfamília Calamoideae, utilizando a região nuclear ITS (Figura 7) e cloroplastidial (Figura 8), suportam os gêneros *Mauritia* e *Mauritiella* Burret como grupos irmãos (Baker et al., 2000). A história destes dois gêneros se misturou no passado quanto à taxonomia, uma vez que o gênero *Mauritiella* foi proposto por Burret, em 1935, mas, posteriormente, Hawkes (1952) sinonimizou esse gênero em *Mauritia*. Mais tarde, Balick (1981) revalidou o gênero *Mauritiella* e esse nome ainda vem sendo utilizado no presente.

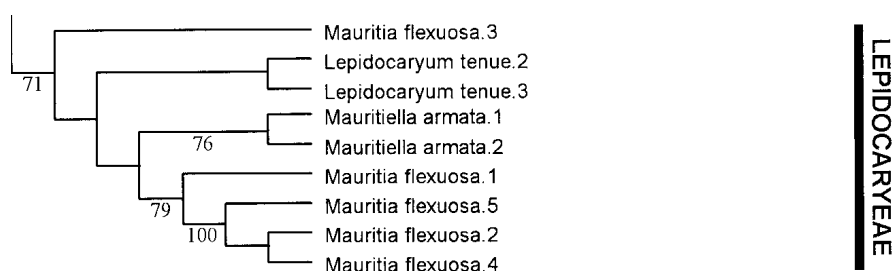


Figura 7. Parte da árvore filogenética para a subfamília Calamoideae representando a relação filogenética entre *Mauritia flexuosa* e *Mauritiella armata* como grupos irmãos para a região nuclear ITS (17SE e ITS4) resultado do consenso de 405 árvores igualmente parcimoniosas. Os números abaixo dos ramos representam os valores de suporte de *Jackknife* (Fonte: Baker et al., 2000)

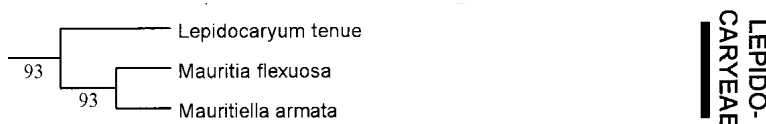


Figura 8. Parte da árvore filogenética para a subfamília Calamoideae representando a relação filogenética entre *Mauritia flexuosa* e *Mauritiella armata* como grupos irmãos para a região cloroplastidial *rps16* resultado do consenso das 10 árvores filogenéticas mais parcimoniosas. Os números abaixo dos ramos representam os valores de suporte de *Jackknife* (Fonte: Baker et al., 2000)

Atualmente, o gênero *Mauritia* é composto por duas espécies: *M. carana* (ocorre no Peru (Loreto), na região do Rio Negro e áreas adjacentes da Venezuela (Amazonas, Guainía) até Manaus no Brasil) e *M. flexuosa*, ambas estreitamente relacionadas à *Mauritiella* (Henderson, 1995a; Henderson et al., 1995b). O gênero *Mauritiella* é caracterizado por indivíduos, de uma forma geral, menores que os de *Mauritia*, e se distingue por hastes agrupadas, que são cobertas próximo a base com espinhos cônicos fortemente enraizados. *Mauritiella* é composto por três espécies: *M. aculeata*, *M. armata* ambas de ocorrência Trans-Andina (Figura 9) e uma de ocorrência na

costa do Pacífico da Colômbia, *M. macroclada* (Henderson, 1995a; Henderson et al., 1995b) (Figura 10).

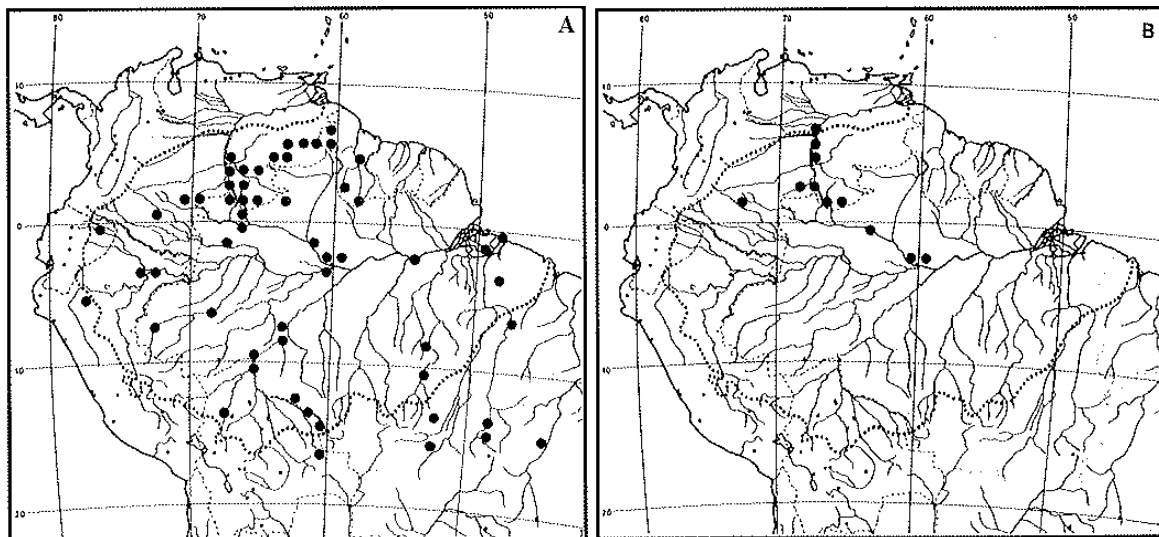


Figura 9. Representação da distribuição geográfica de *Mauritiella armata* (A) e *Mauritiella aculeata* (B) (Fonte: Henderson, 1995a)

O registro de pólen mais antigo de *Mauritia* estende-se até o Paleoceno. Ele aparece próximo ao limite Cretáceo/ Terciário (cerca de 65 milhões de anos antes do presente), representado pelo fóssil do pólen da espécie *Mauritiidites franciscoi* (Muller, 1970). O fóssil do pólen de *Mauritia* aparece na literatura como o gênero-forma: *Mauritiidites franciscoi*, *Mauritiidites sp.*, *Mauritiidites*, *Mauritia*-tipo e *Mauritia* (Rull, 1998). Ele é bem distribuído e comum durante o Terciário (65 a 1,7 m. a. P nas bacias do norte da América do Sul do Brasil, Colômbia e Peru onde tem sido registrado desde o Paleoceno (Muller, 1970; Hoorn, 2006) (Figura 10). Este pólen é identificado baseado na presença de espinhos profundamente enraizados, uma característica morfológica única, e é considerado o fóssil equivalente a *Lepidocaryum* (pólen monosulcado como em *Mauritiidites*), *Mauritia* e *Mauritiella* (ambos com pólen monoporado) (Rull, 2001).

A ocorrência do pólen de *Mauritiidites* no Terciário é localizada em áreas que atualmente este táxon não ocorre mais (Rull, 1998) e mostra que sua distribuição geográfica foi notavelmente reduzida e fragmentada pela orogênese dos Andes durante o Oligoceno-Mioceno (Terciário/ Quaternário), resultante de uma reorganização das placas tectônicas (Hoorn et al., 1995). O soerguimento do nordeste dos Andes no Quaternário e o desenvolvimento de uma cordilheira geraram especiação alopátrica e extinções locais

(Rull, 1991; 1996a; 1998; 2001) sendo este um dos fatores relevantes para a construção da história evolutiva de *Mauritia flexuosa*, visto que desempenhou um papel importante no isolamento de *Mauritiidites franciscoi*. No passado, *M. franciscoi* foi isolada por este evento tectônico, de modo que, atualmente, *Mauritiella macroclada* permanece na região Cis-Andina e as demais espécies pertencente aos gêneros *Mauritia* e *Mauritiella* estão distribuídas pela região Trans-Andina (Rull, 1998) (Figura 10).

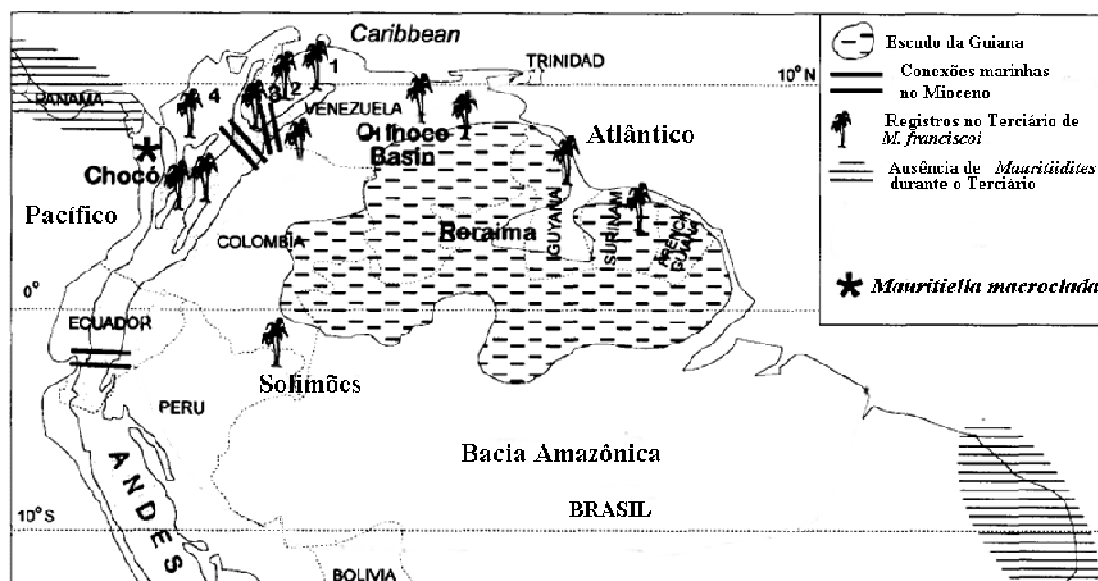


Figura 10. Mapa do norte da América do Sul com distribuição do fóssil de *Mauritia* no Terciário e a distribuição atual de *Mauritiella macroclada* representada pelo símbolo *. Os números representam: 1 (Bacia do Falcon), 2 (Bacia do Mararacibo), 3 (Delta do Catatumbo) e 4 (Bacia de Magdalena) (Fonte: Rull, 1998 - modificada no presente trabalho)

Adicionalmente à influência do soerguimento dos Andes sobre *M. franciscoi* alguns mecanismos ecológicos contribuíram para a redução de sua ocorrência no Terciário. A nova topografia em montanhas não era um habitat favorável para *M. franciscoi* e isto pode ter induzido a condições desfavoráveis (climas mais secos, desprovido de topografia para o alagamento) nas poucas bacias isoladas. Houve um forte decaimento de *Mauritia* no Mioceno médio e Tardio pelo registro fóssil (Hoorn, 1995; 2006) provavelmente devido ao desaparecimento de muitas áreas de planícies especialmente as costeiras e sua substituição por paisagem de montanhas.

Durante o Pleistoceno (os últimos 1,7 milhões de anos) no mínimo 30 ciclos glacial/ interglacial são registrados (Salgado-Labouriau, 1998) causando profundas reorganizações biogeográficas. Nas planícies onde ocorrem *Mauritia*, a sequência do

período glacial/ interglacial foi paralela a oscilações climáticas secas/ úmida (Burnham & Graham, 1999). O registro fóssil sugere que *M. flexuosa* sofreu os efeitos das flutuações climáticas do Quaternário em sua distribuição, pois há indícios de redução nos registros de pólen da espécie nos períodos frios e secos do Glacial (Ferraz-Vicentini & Salgado-Labouriau 1996; Salgado-Labouriau et al., 1997; Rull, 1998; Burnham & Graham, 1999; Barberi et al., 2000). Acredita-se que a persistência de planícies no interior da Amazônia impediu o total desaparecimento de *Mauritia* (Rull, 1998). A espécie foi um importante componente para as florestas na Amazônia e persistiu durante os períodos secos e úmidos, entretanto sua abundância foi notavelmente reduzida durante os períodos secos (Absy & Hammen, 1976). As mudanças climáticas do Pleistoceno não eliminaram *Mauritia* da bacia Amazônica. É possível que *Mauritia* tenha progressivamente colonizado áreas secas enquanto elas se tornavam gradualmente mais úmidas e encontrado no Brasil Central local favorável para colonização (Rull, 1998).

Estudos mostram que a sequência de vegetação e dos eventos climáticos encontrados a partir de estudos palinológicos tendem a seguir um padrão geral para o Brasil Central para eventos que ocorreram durante o Pleistoceno (Quaternário). Ferraz-Vicentini & Salgado-Labouriau (1996) e Salgado-Labouriau et al. (1997) descrevem o cenário do clima e vegetação de uma Vereda (Buritizal) do município de Cromínia (GO) no Brasil Central durante o Quaternário Tardio por meio de análises palinológicas. O testemunho de sondagem (“core”) retirado foi datado em mais de 32.400 anos radiocarbônicos (ca) antes do presente (A.P.) até cerca de 3.500 anos A.P. apresentando fases nas quais foi possível verificar as mudanças climáticas ocorridas durante este intervalo. Antes de 32.400 A. P. cresciam vereda e mata de galeria no local e esta região era circundada por Cerrado arbóreo. Isto indica que a distribuição da vegetação na região era semelhante à atual sugerindo um clima quente e semi-úmido, com 4-5 meses secos. No final do Pleniglacial Médio (32.400 ate 28.300 A.P.) os elementos arbóreos e arbustivos começaram a diminuir na região. De ca 27.400 ate 20.000 A.P. a vereda foi substituída por uma lagoa rasa e a região em torno era de campo aberto. Esta fase foi caracterizada por conter elevada umidade e provavelmente ser mais fria que o presente e que as duas fases anteriores. A redução na concentração de pólen, esporos e algas entre ca 18.500 e ca 11.300 A.P. sugeriu uma fase seca e provavelmente fria no final do Pleistoceno. A seca (porém não frio) continuou de ca 10.500 até ca 7.700 A.P. e o local de coleta foi queimado sugerindo uma estação seca mais prolongada do que a atual. De 6.680 a ca 3.500 A.P. o

buritizal, a floresta de galeria e o Cerrado arbóreo começaram a retornar à região indicando um aumento de umidade. O estudo não encontrou informação a respeito dos últimos 3.500 A.P. anos em virtude da parte superior do sedimento ter sido queimada e removida pela ação do homem atual. A abundante ocorrência de partículas de carvão nos sedimentos mais antigos sugeriu que o Cerrado foi queimado muitas vezes por fogo, provavelmente natural, durante o Pleniglacial, ainda que a vereda não sofresse a ação do fogo. A presença de partículas de carvão no início do Holoceno poderia em parte ser devida a ocupação humana da região.

Barberi et al. (2000) realizaram um estudo sobre a paleovegetação e paleoclima da Vereda de Águas Emendadas (DF) no Brasil Central e encontram resultados que geram interpretações concordantes ao trabalho desenvolvido por Ferraz-Vicentini & Salgado-Labouriau (1996) e Salgado-Labouriau et al. (1997). A análise palinológica da vereda estudada no topo de um platô mostra uma sequência de mudanças nos últimos ca 30.500 anos. Há ca 30.480 +/- 100 anos A.P. iniciou-se uma deposição de turfa nesta área e entre ca 25.790 +/- 70 e ca. 24.200 anos A.P. grãos de pólen e algas eram abundantes nesta turfa, indicando presença de vegetação palustre cercada de Cerrado aberto e manchas de mata de galeria no cume do platô. Entre ca 24.000 e 21.450 +/- 100 anos A.P. a vegetação era mais densa que a atual, com plantas aquáticas em abundância e com algumas árvores de clima mais frio, sugerindo um clima mais úmido e provavelmente mais frio que o presente. A ausência de pólen de *Mauritia* durante todo esse tempo indica que não havia vereda na área. A redução drástica da concentração e da diversidade pólen, algas e esporos entre ca 21.000 e 7.220 +/- 50 anos A.P. sugere uma fase seca que resultou em um clima mais sazonal e na desertificação do cume do platô. Pouco depois de 7.000 anos A.P. a quantidade de pólen e esporos aumentou e o pólen de *Mauritia* começou a ser encontrado nos sedimentos, o que mostrou que a vegetação começou novamente a crescer na área. De ca 5.600 anos A.P. até o presente, vários tipos de vegetação ocorrem no cume do platô, da mesma forma que hoje: o cerrado, as matas secas e a vereda com buritis. O clima nesta fase era semelhante ao atual. Assim como no município de Cromínia (GO) (Ferraz-Vicentini & Salgado-Labouriau, 1996; Salgado-Labouriau et al., 1997) partículas de carvão são encontradas em todo o sedimento.

Nem todas as variações nos aglomerados de pólen de *Mauritia* podem ser interpretadas em termos climáticos. A mudança de curso de rios e o aumento de áreas alagadas também têm forte influência em sua distribuição (Rull, 1998). Sabe-se que *M.*

flexuosa ocorre em associação a áreas alagadas, e assim a água se destaca como fator importante para persistência desta espécie. A persistência de *M. flexuosa* no Cerrado durante os períodos secos é possível em virtude da drenagem superficial perene, no fundo dos vales, responsável pela manutenção das Veredas (Ab'Sáber, 2005).

O bioma Cerrado desempenha papel fundamental na distribuição dos recursos hídricos no território brasileiro e na América do Sul (Brasil, 1998). A bacia hidrográfica é definida como uma área de captação natural da água da precipitação que faz convergir o escoamento para um único ponto de saída (Porto & Laina, 2008). As grandes bacias hidrográficas da América do Sul possuem suas partes mais altas localizadas no Planalto Central brasileiro, região onde se insere o bioma Cerrado, local em que diversos rios nascem, e, na medida em que seguem em direção ao mar, ganham volume, abastecendo grande parte do Brasil e outros países sul americanos (Brasil, 2007). De acordo com a Divisão Hidrográfica Nacional (2003) as bacias hidrográficas brasileiras são classificadas e identificadas da seguinte forma: Bacia Amazônica, Bacia dos Rios Tocantins/ Araguaia, Bacia do Atlântico Nordeste Ocidental, Bacia do Parnaíba, Bacia do Atlântico Nordeste Oriental, Bacia do Rio São Francisco, Bacia do Atlântico Leste, Bacia do Atlântico Sudeste, Bacia do Atlântico Sul, Bacia do Paraguai, Bacia do Rio Paraná e Bacia do Rio Uruguai (Figura 11).

Entre as bacias hidrográficas que recebem as águas provenientes da área do Cerrado destacam-se as dos seguintes rios: Amazonas, Araguaia, Tocantins, São Francisco, Paraná, Paraguai, Parnaíba, Itapecuru, Pardo e Jequitinhonha. A Estação Ecológica de Águas Emendadas, localizada na região de Planaltina é conhecida por ser um divisor de águas, de onde os rios das bacias que ali se inserem, correm em direções contrárias, Norte e Sul (Lima & Silva, 2008). A parte norte da Estação, para onde drena o Córrego Vereda Grande, localiza-se na Bacia Hidrográfica do Maranhão, que contribui para a formação dos corpos hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Tocantins-Araguaia. A parte Sul, para onde drena o Córrego Brejinho, localiza-se na Bacia Hidrográfica do Rio São Bartolomeu, que contribuiu para a formação dos corpos hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Paraná. A divisão norte/sul é arbitrária, tendo como limite o divisor de águas entre as bacias hidrográficas do Maranhão e São Bartolomeu (Lima & Silva, 2008).

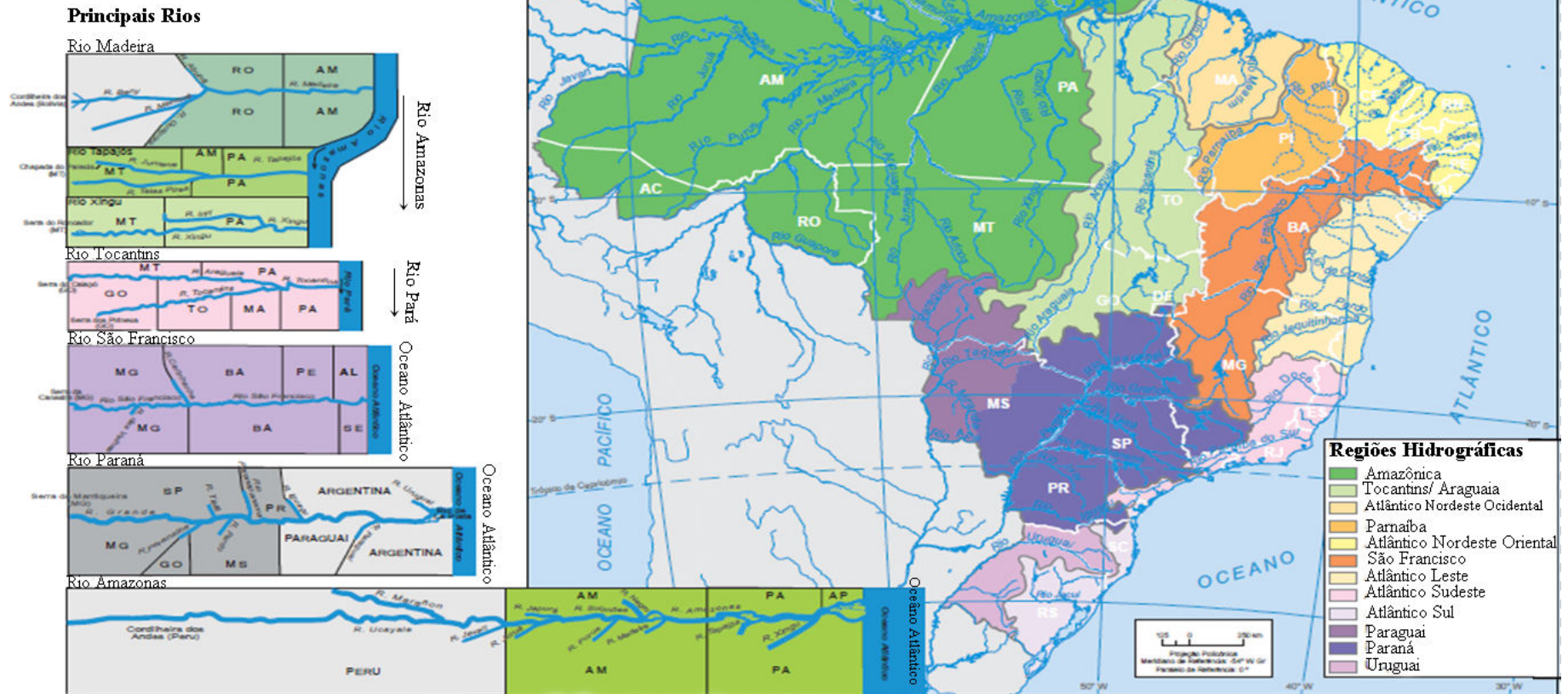


Figura 11. Representação das Bacias Hidrográficas brasileiras e percurso dos principais Rios do país (Fonte: Divisão Hidrográfica Nacional 2003)

2.4 CONCEITOS GERAIS

Entende-se por *haplótipo* uma combinação única de estados alélicos de marcadores genéticos presentes ao longo de um único cromossomo (Hartl & Clark, 2010). A distribuição do número observado de diferenças par a par entre os pares de haplótipos é conhecida por distribuição de *mismatch* (Scheineider & Excoffier, 1999). Essa distribuição geralmente é multimodal em amostras retiradas de populações em equilíbrio demográfico, uma vez que isto reflete na forma altamente estocástica das árvores dos genes, mas é geralmente unimodal em populações que passaram por uma expansão demográfica recente (Hudson, 1991; Rogers & Happerding, 1992).

Os sítios segregantes são os sítios nucleotídicos na amostra que são ocupados por dois ou mais nucleotídeos (S). O número médio de diferenças de nucleotídeos entre todas as comparações de sequências par a par é conhecido por π . A diversidade nucleotídica, comumente simbolizada pela letra grega π , é a probabilidade de que uma amostra de um sítio nucleotídico em particular tomada ao acaso de dois indivíduos seja diferente. É a proporção média de diferenças nucleotídicas entre todos os possíveis pares de sequências, sendo essencialmente a heterozigosidade no nível do nucleotídeo (Hartl & Clark, 2010).

O tamanho efetivo populacional (N_e) é o número de indivíduos reprodutivos, já que estes são os que contribuem para a próxima geração. O tamanho populacional efetivo de uma população real é o número de indivíduos que, em uma população ideal, sofreria a mesma magnitude de deriva genética aleatória que a população real (Hartl & Clark, 2010). A genealogia que representa a relação entre uma gama de cópias de genes, escolhidas de uma população ao acaso, pode ser vista como uma série de coalescências, que são pontos nos quais duas linhagens possuem um ancestral em comum.

O intervalo de tempo entre uma coalescência e a próxima é esperado que tenha uma distribuição que dependa do tamanho efetivo populacional $4N_e$ em uma população diplóide ou $2N_e$ em uma população haplóide. Na ausência de um padrão, os dados de sequências moleculares podem não gerar informações sobre as durações reais desses intervalos, mas a respeito da quantidade de mudança que lhes ocorreram (Kuhner et al., 1995). Então no lugar de estimar $4N_e$ estima-se seu produto com a taxa de mutação neutra μ , chamado de parâmetro θ . Portanto, parâmetro θ é definido como $4N_e\mu$, em que N_e é o tamanho populacional efetivo diplóide, μ é a taxa de mutação por sítio por geração

(Kuhner et al., 1995; Kuhner, 2006; Fu & Li, 1993). Um valor específico de θ pode ser escolhido para gerar a distribuição da coalescência (Fu & Li, 1993).

2.5 ASPECTOS GERAIS DA FILOGEOGRAFIA

A biogeografia é o estudo do padrão de distribuição dos seres vivos na Terra (Sene, 2009). Os limites da distribuição de uma espécie podem ser estabelecidos por seus atributos ecológicos (por exemplo: umidade, temperatura, alimento, predadores e competidores) ou por alguma explicação histórica. Na maioria dos casos a visão completa da distribuição de uma espécie exige tanto o conhecimento ecológico quanto o histórico e deste modo os dois fatores não se opõem, sendo que o método sensível de análise consiste em descobrir como ambos (a ecologia e a história) se combinaram para produzir a distribuição da espécie (Ridley, 2006). A biogeografia pode ser dividida em dois campos: a ecogeografia e a biogeografia histórica. A ecogeografia enfatiza o papel das pressões ecológicas contemporâneas na modelagem da distribuição espacial dos organismos modelos (Avice, 2000). A biogeografia histórica preocupa-se com a geografia e as relações entre as espécies, os gêneros e entre grupos taxonômicos mais elevados (Ridley, 2006), derivando a filogeografia, considerada uma sub-disciplina da biogeografia (Avice, 2000).

A filogeografia é um campo de estudo que objetiva investigar os princípios e processos que governam a distribuição da genealogia das linhagens, especialmente aquelas dentro e entre espécies próximas (Avice, 1987). Como a palavra sugere, a filogeografia trata com os componentes históricos geográficos e filogenéticos, ou seja, da distribuição espacial das linhagens dos genes (Avice, 1987; 2000; 2009). Baseada em uma amostragem apropriada de indivíduos e dos genes, os filogeógrafos utilizam dados genéticos do presente de uma população para testar hipóteses biogeográficas, descrever a evolução do isolamento reprodutivo de unidades populacionais, inferir a respeito da distribuição das genealogias e a origem de processos que as moldaram (Avice, 2009; Beheregaray, 2008).

Neste sentido, a filogeografia tem gerado contribuições valiosas que agregam conhecimento sobre a história evolutiva das espécies como: inferências a respeito das origens geográficas de espécies, a possível localização de refúgios em períodos-chaves do passado, o incentivo ao estudo da evolução de marcadores moleculares, subsídios para o desenvolvimento de estratégias de conservação e manejo sustentável da(s) espécie(s) estudada(s) (Avice, 2000; 2009; Beheregaray, 2008).

Os estudos filogeográficos também incluem os preceitos da ecogeografia em uma perspectiva histórica e multidisciplinar, tendo em vista que as pressões ecológicas e contemporâneas não são as únicas responsáveis pela distribuição espacial das linhagens, e a seleção natural não é o único mecanismo capaz de gerar linhagens que reflitam em padrões geográficos (Avise, 2000). O isolamento geográfico de uma população geralmente é decorrente de eventos históricos podendo ser causado por dispersão e/ou vicariância. O âmbito de uma espécie mudará se os membros dela se moverem no espaço caracterizando o processo de dispersão. Animais e plantas movem-se ativa e passivamente, no espaço para procurar áreas desocupadas ou em resposta a mudanças ambientais (na fase de semente, as plantas movem-se passivamente) (Ridley, 2006). Sob interpretação da vicariância, as populações ou os táxons relacionados tornaram-se separados quando muitas ou poucas formas ancestrais apresentavam extensões contínuas e foram separadas por eventos ambientais (Posadas et al., 2006).

A vicariância e a dispersão são duas possibilidades levadas em consideração para estimar a origem espacial disjunta de táxons. Ronquist (1997) faz uma crítica a modelos que não consideram os processos de dispersão e extinção relevantes e sugere um método biogeográfico de análise no qual não se assume pressuposto algum a respeito das relações de parentesco e a área de distribuição (análise dispersão-vicariância). Dentro da filogeografia, estimativas genealógicas apropriadas podem auxiliar no peso das influências de dispersão versus vicariância (bem como qualquer outro processo evolutivo) na modelagem da distribuição geográfica dos modelos genéticos (Avise, 2000). Para gerar estas estimativas genealógicas os primeiros estudos filogeográficos começaram a utilizar o DNA mitocondrial (mtDNA) com intuito de verificar como os indivíduos estavam ligados genealogicamente através dos ancestrais comuns (Avise, 1994). O mtDNA é usado para estudos filogeográficos em animais, as sequências de DNA cloroplastidial (cp) em estudos com plantas, e as sequências de DNA nucleares não codificantes (nc) para os estudos filogeográficos em animais e as plantas (Hewitt, 2004).

As regiões não codificantes do cpDNA evoluem pelo acúmulo de substituições de nucleotídeos e mutações microestruturais como deleção (equivalentes a indels, representadas por gaps) e inversões. A aplicação de dados de sequências não codificantes de DNA em plantas vem crescendo, visto que os íntrons e os espaçadores geram informações relevantes para os estudos evolutivos. Comparada às sequências codificantes, é diferente a dinâmica mutacional dos íntrons e espaçadores, envolvendo mudanças

microestruturais frequentes relacionadas à adição e substituição de nucleotídeos individuais (Borsch & Quandt, 2009).

O estudo das diferenças do DNA entre as espécies relacionadas, ou polimorfismos no DNA de uma dada espécie, pode fornecer a compreensão da natureza das mutações e dos processos evolutivos que compõem sua história (Britten et al., 2003). Para exemplificar o uso do cpDNA em estudos filogeográficos alguns trabalhos são citados com as respectivas interpretações dos padrões encontrados nas linhagens. Caron et al. (2000) investigaram o nível e a organização do polimorfismo de DNA cloroplastidial em populações de *Dicorynia guianensis* (Caesalpinaceae) e quando comparadas em áreas diferentes da Guiana Francesa foi encontrado um modelo geográfico da frequência dos haplótipos ao longo da costa do Atlântico. Este modelo de acordo com os autores é provavelmente o resultado da dinâmica de restrição-expansão das florestas tropicais durante o Quaternário.

Cavers et al. (2003) estudaram a filogeografia baseado no polimorfismo de cpDNA de *Cedrela odorata* (Meliaceae) na Mesoamérica em 29 populações de seis países e identificaram cinco haplótipos, filogeneticamente agrupados em três linhagens (norte, centro e sul) que não seguiram o modelo de isolamento por distância. De acordo com os autores como a colonização da península proto-Mesoamericana foi dada pela flora e fauna da América do Sul em virtude da formação do Istmo do Panamá, sendo provável que a estrutura observada em *C. odorata* seja o resultado de repetidas colonizações da Mesoamérica por populações da América do Sul. Caetano et al. (2008) realizaram um estudo filogeográfico baseado em dois marcadores cloroplastidiais (psbA-trnH e trnS-trnG) com 53 populações naturais da espécie *Astronium urundeuva* distribuídas em áreas de Mata Seca na Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai. Os autores identificaram cinco haplótipos que apresentaram distribuição espacialmente estruturada e revelaram um processo de vicariância e progressiva divergência entre as populações.

Os genes nucleares de cópia simples também geram dados de sequência para estudos filogeográficos em nível intra-específico (Avise, 2009). O aumento do uso de sequências de DNA nuclear (ncDNA) em estudos filogeográficos, combinados com os dados organelares, direcionam análises multilocos, com consideráveis melhoras na precisão e consistência em inferência histórica (Brito & Edwards, 2009). Lorenz-Lemk et al. (2005) estudaram a filogeografia de *Passiflora actinia* e *P. elegans* (Passifloraceae) utilizando marcadores cloroplastidiais e nuclear (ITS). Para este estudo os marcadores

plastidiais apresentaram variação restrita, porém quando adicionado as análises dos dados nucleares contribuíram para identificação de um híbrido intra-específico de morfologia intermediária na borda da distribuição entre estas duas espécies. Olsen (2002) realizou um estudo a respeito da história populacional de *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) e *M. pruinosa*, uma espécie híbrida potencial, por meio do gene nuclear *Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (G3pdh)*. A distribuição dos haplótipos indicou um isolamento por distância para as populações de *M. esculenta* e os haplótipos compartilhados em nível interespecífico com *M. pruinosa* provavelmente refletem uma recente introgressão inter-específica ou rearranjo incompleto de linhagens entre estas espécies.

Nos estudos filogeográficos as inferências sobre a história evolutiva das espécies se baseiam em testes estatísticos relacionados às hipóteses históricas e estimativas dos parâmetros demográficos (Knowles, 2009). Diversos métodos aplicados as análises filogenéticas tradicionais como: de distância, máxima parcimônia, máxima verossimilhança e inferência bayesiana são frequentemente usados nos estudos filogeográficos tradicionais (Freeland, 2005). Surgem outras abordagens filogeográficas como a filogeografia estatística que não estuda apenas os padrões observados pela variação genética, mas modelos estatísticos a partir de várias hipóteses que proporcionem avaliações sobre os processos evolutivos e as estimativas de parâmetros (Knowles, 2000). Os estudos estatísticos filogeográficos contribuem para o entendimento dos fatores que influenciaram a divergência e especiação, gerando modelos biogeográficos (Knowles & Maddison, 2002). Proporcionam ainda meios de se estudar os padrões de distribuição da variação genética, com o potencial de distinguir aqueles causados por fluxo gênico atual entre as populações, daqueles derivados de eventos históricos (Knowles, 2000; 2004; 2009; Richards et al., 2007).

O conceito de genealogia do gene e demografia populacional são intimamente relacionados em estudos microevolutivos de populações próximas e espécies relacionadas. A Teoria da Coalescência é um modelo retrospectivo de genética de populações, baseado na genealogia de genes, que descreve as ligações (coalescência) das linhagens retrospectivamente no tempo, até um ancestral comum (Kingman, 1982; Avise, 1994; 2000; 2009). Ela lida com expectativas matemáticas e estatísticas para as relações filogenéticas históricas entre as linhagens em função dos parâmetros demográficos populacionais com as médias e as variâncias na distribuição do tamanho da família, e na magnitude do fluxo gênico interpopulacional (Avise, 2000).

A Teoria da Coalescência proporcionou o desenvolvimento de simulações e rigorosas análises estatísticas de dados populacionais (Knowles, 2009). Ela utiliza-se de dois estimadores diferentes para o parâmetro chave, $\theta = 4N_e\mu$, onde N_e é o tamanho efetivo populacional, e μ é a taxa de substituição (Kingman, 2000). A conclusão geral, a partir da teoria estatística, é que os fatores históricos demográficos (como as médias e as variâncias nos números de descendentes por família) podem influenciar a genealogia dos genes de maneira estatisticamente previsível. Por exemplo, os pontos de coalescência na genealogia dos genes geralmente são mais antigos em populações com tamanho efetivos maiores. Assim, estruturas ramificadas nas árvores de genes podem ser interpretadas sob a Teoria da Coalescência, para auxiliar a revelar a história demográfica de uma população (Avise, 2000).

No estudo das espécies neotropicais, a filogeografia tem se mostrado uma ferramenta bastante útil e capaz de revelar o papel que eventos históricos do Terciário/Quaternário possuem sobre a distribuição da diversidade e estrutura genética das espécies. Sabe-se que a dispersão das sementes de *M. flexuosa* por zoocoria e pela água são fatores de grande peso para a determinação de sua estrutura populacional, no entanto, não são suficientes para evitar o processo de diferenciação entre as populações. Espera-se que o padrão filogeográfico de *M. flexuosa* esteja associado à sua distribuição nas grandes bacias hidrográficas, e que as áreas secas que as circundam atuem como barreira ao fluxo gênico da espécie e, portanto haveria elevado nível de diferenciação entre as populações de *M. flexuosa* por bacia hidrográfica distribuídas no Brasil Central.

Objetiva-se estudar a estrutura genética e a filogeografia de *M. flexuosa* em populações distribuídas no Brasil Central e relacionar os resultados obtidos com os eventos históricos e demográficos, associando as flutuações climáticas que influenciaram a distribuição atual da espécie nas veredas, de maneira a contribuir para o entendimento da evolução e dos efeitos da fragmentação na espécie e no ambiente no qual está inserida, as veredas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREAS DE ESTUDO

Foram amostradas 14 populações de *M. flexuosa* de indivíduos adultos, em áreas de Veredas que representam a distribuição geográfica da espécie no Brasil Central, englobando as bacias hidrográficas: do Amazonas, do Araguaia-Tocantins, do São Francisco e do Paraná. A coleta inclui de três a vinte indivíduos, distribuídos nas seguintes localidades com seus respectivos códigos: Acreúna (GO)- AGO, Campo Grande (MS)- CGMS, Cerejeiras (RO)- CERO, Cidade de Goiás (GO)- CGO, Diamantino (MT)- DIMT, Estação Ecológica de Águas Emendas (DF)- AEDF, Mozarlândia (GO)- MGO, Novo Planalto (GO)- NGO, Nova Xavantina (MT)- NMT, Paraíso do Tocantins (TO)- PATO, Parque Nacional Cavernas do Peruaçu (MG)- PMG, Porto Franco (MA)- PFMA, Ribeirão Cascalheiras (MT)- RMT, São Miguel do Araguaia (GO)- SGO (Figura 12).

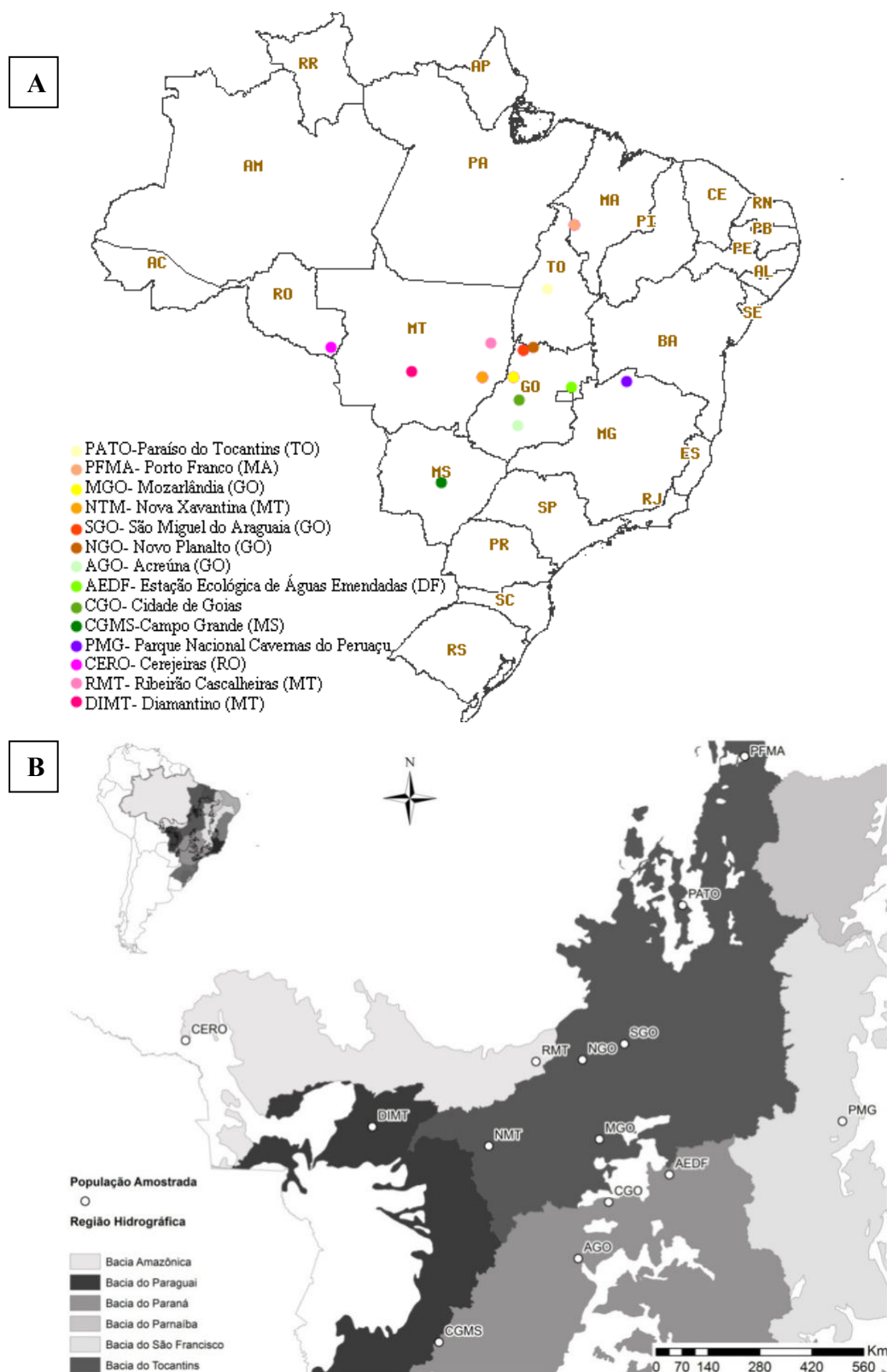


Figura 12. A- Distribuição geográfica das 14 populações amostradas para o estudo filogeográfico de *Mauritia flexuosa* no Brasil. B- Visualização referente às 14 populações amostradas por bacia hidrográfica na região do Brasil Central em zoom

3.2 EXTRAÇÃO DE DNA E SELEÇÃO DAS REGIÕES CLOROPLASTIDIAIS

Para o estudo filogeográfico foi extraído DNA a partir das folhas dos indivíduos coletados, utilizando-se o protocolo de extração CTAB dois por cento (Doyle & Doyle, 1987) e após a extração, o DNA total foi quantificado. O DNA foi diluído para uma concentração de, aproximadamente, cinco nanogramas por microlitro ideal para a montagem das reações em cadeia da polimerase (PCR) (Figura 13). As amostras de DNA estoque e de trabalho foram armazenadas em freezer.

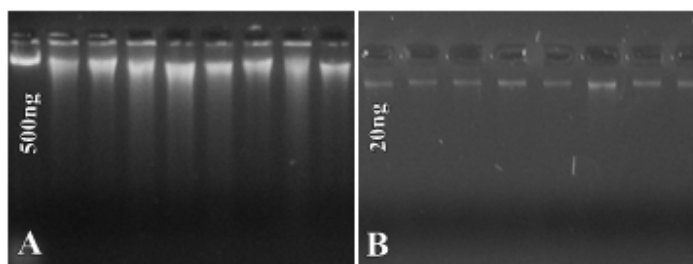


Figura 13. (A) DNA extraído visualizado em gel de agarose 1% para a quantificação com lambda a concentração de 500ng e (B) DNA diluído visualizado em gel de agarose 1,5% para a quantificação

Foram selecionados quatro indivíduos de quatro localidades que representassem pontos coletados discrepantes em termos de distância por Bacia Hidrográfica para testar a amplificação por PCR de regiões cloroplastidiais (Figura 14) com diferentes taxas de substituição e selecionar aquelas que apresentassem polimorfismos. Para cpDNA foram testadas as regiões intergênicas: *trnC-ycf6* (Demesure et al., 1995), *psbA-trnH*, *trnS-trnG*, *trnS-trnG2S*, *rpS12-rpL20*, *rpL16*, *rpS16* (Shaw et al., 2005), o íntron *trnL* amplificado pelo par de primer “c” e “d” e o íntron *trnL* amplificado pelo par de primer “e” e “f” (Taberlet et al., 1991) (Tabela 1). Apenas as regiões cloroplastidiais *psbA-trnH*, *trnC-ycf6* e *trnS-trnG* apresentaram polimorfismo e portanto apropriadas para a proposta do trabalho. Foram realizados testes de PCR também para as regiões nucleares ITS 75-92 (Desfeux, & Lejeune, 1996) e ITS 04-05 (White et al., 1990) (Tabela 2). As regiões nucleares apresentaram sucesso na amplificação, porém não foram geradas sequências que pudessem ser aproveitadas para as análises filogeográficas. Baker et al. (2000) apenas obtiveram sucesso no sequenciamento das regiões nucleares para palmeiras quando clonaram os produtos de PCR do ITS.

3.3 OBTENÇÃO DOS DADOS MOLECULARES

Os testes para a reação de PCR utilizando os primers citados foram otimizados com ajustes nas temperaturas de anelamento e concentração dos reagentes para a amplificação de cada região. As temperaturas de anelamento para as regiões cloroplastidiais foram: 57°C *psbA-trnH*, 62°C *trnC-ycf6* e 57°C *trnS-trnG*. Os fragmentos foram amplificados via PCR em um volume total de vinte microlitros (Tabela 3).

Tabela 3. Protocolo de PCR para as três regiões cloroplastidiais estudadas

Reagente	Concentração final	Volume
Água ultra pura	—	4,2 µl
DNA(5ng/µl)	25ng	5 µl
Primer <i>Foward</i> (1µM)	0,1µM	2 µl
Primer <i>Reverse</i> (1µM)	0,1µM	2 µl
Tampão da enzima 10X	1x*	2 µl
Albumina bovina (2,5 mg/ml)	0,312mg/ml	2,5 µl
DNTPs (2,5mM)	0,25mM	2 µl
<i>Taq polimerase</i> (5u/µl)	1,5 unidades	0,3 µl
Total	—	20 µl

* Tampão 1x (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂).

O programa de PCR utilizado para cpDNA possui os seguintes passos: (primeiro) desnaturação do DNA a 94°C por cinco minutos; (segundo) a 94°C por um minuto; (terceiro) anelamento do primer (temperatura específica para cada primer) por um minuto; (quarto) extensão da molécula pela enzima *Taq polimerase* (*Pho neutra*) a 72°C por um minuto; (quinto) 35 ciclos seguindo do segundo ao quarto passo; (sexto) extensão de sete minutos a 72°C para finalizar os produtos amplificados. As regiões foram amplificadas por PCR utilizando termocicladores GeneAmp PCR System 9700 (*Applied Biosystems, CA*).

Os produtos de PCR, juntamente com o marcador de um kilobase (1KB *Invitrogen*), foram submetidos à eletroforese (Figura 15). Os indivíduos que apresentavam amplificação satisfatória eram selecionados para a reação de purificação do produto da PCR com as enzimas *Exonuclease I* – EXO (2,500U) e *Shrimp Alkaline Phosphatase* – SAP (5000U) (*Amersham Biosciences*). Para cinco microlitros de produto de PCR era utilizado um microlitro das enzimas EXO-SAP (a mistura das enzimas eram na proporção

de um EXO: nove SAP) e as amostras eram levadas ao termociclador com seguinte programa: 37°C por noventa minutos e oitenta graus por vinte minutos.

Com o produto purificado de PCR foram feitas reações de sequenciamento utilizando o kit de sequenciamento *DYEnamicTM ET terminator* (GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante utilizando o seguinte programa no termociclador: 95°C por vinte segundos, cinquenta graus por 15 segundos e sessenta graus por um minuto em 25 ciclos. O produto da reação de sequenciamento era submetido a um processo de purificação de acordo com instruções do fabricante. O sequenciamento foi feito em sequenciador automático de DNA ABI Prism 3100 (*Applied Biosystems, CA*) (Figura 15). Os fragmentos foram sequenciados em ambas as direções, *forward* e *reverse* para montagem da fita consenso. Para a região intergênica *trnC-ycf6* foi sequenciado apenas a fita *reverse* (duas vezes para cada indivíduo) pois as sequências geradas para *forward* continham um microssatélite em seu início impossibilitando que um número satisfatório de pares de base fossem obtidos.

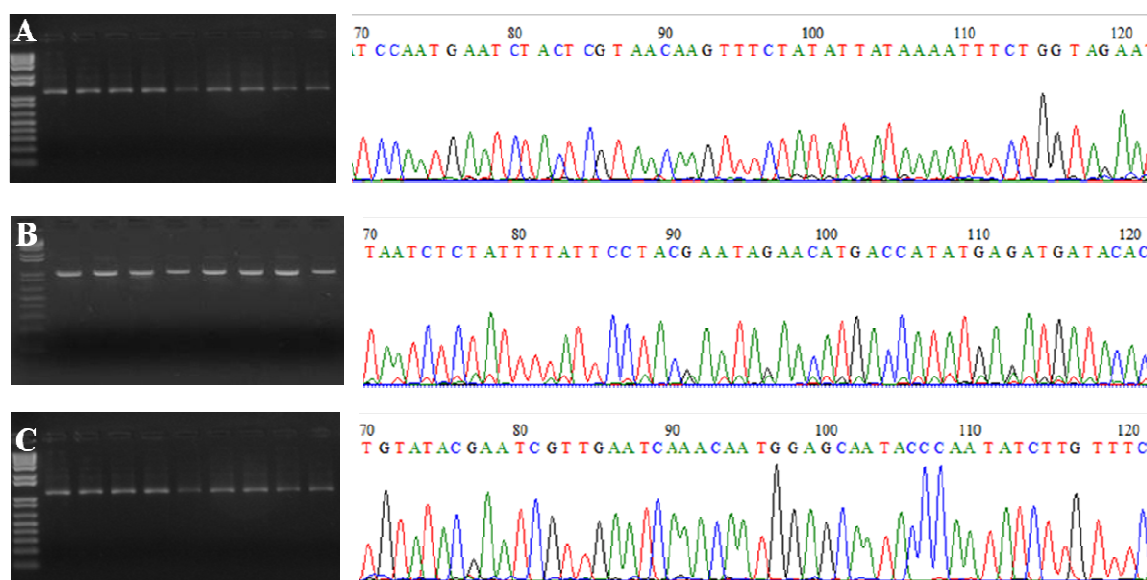


Figura 15. Gel de agarose (1,5%) dos produtos de PCR referente às regiões cloroplastidiais *trnC-ycf6*-62°C (A), *trnS-trnG*-57°C (B) e *psbA-trnH*-57°C (C) com os respectivos eletroferogramas (*reverse* para *trnC-ycf6* e *forward* para *trnS-trnG* e *psbA-trnH*)

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SEQUÊNCIAS

O sequenciamento foi realizado no Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. As sequências foram analisadas e as fitas consenso montadas, editadas e alinhadas utilizando o programa

SeqScape 2.7 (*Applied Biosystems, CA*). Posteriormente foram editadas por inspeção visual e realinhadas no programa *Muscle* (Edgar, 2004). Foram estimadas as diversidades nucleotídica (π) e haplotípica (h) para cada população, por bacia hidrográfica e para as populações como um todo pelo programa Alerquin 3.1 (Excoffier et al., 2006).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para testar a hipótese de que a distância geográfica está correlacionada com a distância genética entre as populações foi realizado o Teste de Mantel utilizando-se a matriz de distância. Para investigar a estrutura genética das populações de *M. flexuosa* foi feita uma Análise da Variância Molecular (AMOVA) utilizando-se o programa Alerquin 3.1 (Excoffier et al., 2006). O modelo da AMOVA usado por este programa é similar ao modelo de Weir & Cockerham (1984) baseado nas análises da variância das frequências dos genes, mas leva em consideração o número de substituições entre os haplótipos (Excoffier, 1992). Esta abordagem gera estimativas dos componentes da variância e análogos das estatísticas F, designados como estatísticas θ , que refletem na correlação da diversidade haplotípica em diferentes níveis de subdivisão hierárquica. A significância dos componentes de variância e das estatísticas θ são testadas através de um modelo de permutação não paramétrica.

Para entender a relação evolutiva entre os haplótipos foi realizada uma análise dos dados de sequenciamento pelo método “*median-joining network*” (Bandelt et al., 1999) implementada no programa Network (Forster et al., 2000). Nesta análise, redes do tipo “*minimum spanning*” são construídas baseadas na união de árvores com o menor número de mudanças entre nós ou haplótipos e que contenham todas as sequências de entrada (Bandelt et al., 1999). Utilizando o critério de parcimônia, o programa encontra os vetores médios, que representam a sequência consenso entre as sequências mais próximas àquele vetor, interpretado biologicamente como: possíveis sequências que não foram amostradas ou sequências de ancestrais extintas (Bandelt et al., 1999).

Os episódios de crescimento e declínio populacional deixam sinais característicos na distribuição dos sítios diferentes de nucleotídeos entre os pares de indivíduos e, portanto, podem ser usados a partir de dados moleculares, para conhecer a história demográfica (Rogers & Harpending, 1992). Para estudar a história demográfica foi obtida a distribuição da frequência das diferenças de bases entre pares de indivíduos (distribuição de *mismatch*) utilizando uma abordagem não linear dos quadrados mínimos

proposta por Schneider & Excoffier (1999) feita pelo programa Alerquin 3.1 (Excoffier et al., 2006). O gráfico da distribuição de *mismatch* foi obtido utilizando-se o programa Dnasp (Librado & Rozas, 2009). Para verificar se as populações estavam sob neutralidade seletiva, em equilíbrio mutação-deriva foram feitos testes de neutralidade de Tajima (Tajima, 1989) e de Fu (Fu, 1997) que são baseados no modelo de infinitos sítios sem recombinação.

Para selecionar o melhor modelo evolutivo de substituição incluindo os parâmetros que o melhor caracteriza foi utilizado o programa JModelTest (Posada, 2008). O modelo obtido foi o F81+I+G encontrado por verossimilhança e sob a informação do critério de Akaike (AIC). Foram colhidas as informações do modelo de substituição F81+I+G para construir a inferência filogenética utilizando o programa Mr Bayes 3.2 (inferência bayesiana).

Para entender a melhor as relações evolutivas entre as sequências, estimar o tempo do ancestral comum mais recente (T_{MRCA}) e acrescentar informações às análises feitas sobre a história demográfica de *M. flexuosa* foi usado o modelo de coalescência (Kingman, 1982) e colhidas as características do modelo evolutivo de substituição (F81+I+G) pelo o programa BEAST 1.6.2 (Drummond & Rambaut, 2007). A taxa de mutação usada foi de $0,8 \pm 0,04 \times 10^{-9}$ mutações por sítio por ano, estimada para regiões cloroplastidiais não codificantes de monocotiledôneas (Yamane et al., 2006). Foi calibrado um nó interno referente à população da Estação Ecológica de Águas Emendadas a partir da datação do registro fóssil de pólen em 7200 ± 50 anos (Barberi et al., 2000). Para esta análise também foram utilizadas três espécies como grupo externo pertencentes à família Arecaceae: *Orbignya phalerata* e *Scheelea phalerata* ambas pertencentes à subfamília Arecoideae, tribo Cocoseae, subtribo Attaleinae (Dransfield et al., 2005) conhecidas popularmente por Babaçu e Bacuri respectivamente, e *Mauritiella armata* pertencente à subfamília Calamoideae, tribo Lepidocaryeae e subtribo Mauritiinae (Dransfield et al., 2005) conhecida popularmente por Buritirana. A visualização da árvore de coalêscencia e da árvore filogenética foi feita pelo programa Fig Tree v.1.3.1.

A taxa de migração entre populações e o tamanho efetivo das populações foram estimados baseado na teoria da coalescência (Kingman, 1982; Tavaré, 1984; Hudson, 1991). Esta análise permitiu distinguir e compreender melhor os eventos históricos de variação demográfica e o fluxo gênico entre populações. Os parâmetros θ (*coalescence*), g (*growth*) e M (*migration*) foram estimados por análise bayesiana, baseado

no processo de amostragem pelo método MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) (Beerli & Felsenstein, 1999; 2001), implementado no programa Lamarc 2.0.2 (Kuhner et al., 2006). Tanto as análises independentes geradas pelo programa *Lamarc* (Kuhner et al., 2006), quanto as geradas pelo o programa BEAST 1.6.2 (Drummond & Rambaut, 2007) foram combinadas e a convergência e estabilidade destas foram checadas usando o programa Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007). Todas estas análises apresentaram valores do tamanho efetivo da amostra (ESS) superiores a duzentos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sequenciamento do produto da amplificação das regiões não codificantes intergênicas *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6* gerou fragmentos de 417 pares de base (pb), 401pb e 387pb, respectivamente. Concatenadas, as regiões geraram um fragmento de 1205pb. Os valores relativos da composição nucleotídica considerando todas as populações para o fragmento concatenado foram para cada base: C = 16,27%, T= 35,27%, A= 32,84%, G= 15,61%. Os valores de diversidade haplotípica e nucleotídica total por região cloroplastidial para todas as populações estudadas encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Tamanho dos fragmentos em pares de base (pb); π - diversidade nucleotídica; h - diversidade haplotípica; n- total de indivíduos sequenciados por região cloroplastidial (n) considerando todas as populações amostradas de *Mauritia flexuosa*

Região cloroplastidial	Fragmento pb	π	h	n
<i>psbA-trnH</i>	417	0,011279 +/- 0,006136	0,708	219
<i>trnS-trnG</i>	401	0,000300 +/- 0,000522	0,110	212
<i>trnC-ycf6</i>	387	0,000660 +/- 0,000819	0,253	222

Os dados cloroplastidiais combinados para as regiões *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6* apresentaram baixos valores de diversidade nucleotídica tanto no total (π = 0,005314 +/- 0,002800), quanto por população. Foi encontrado um alto valor da diversidade haplotípica total (h = 0,791), porém, quando observado por população, verificou-se baixos valores (Tabela 5). Os baixos valores de diversidade haplotípica e nucleotídica por população podem ser um indicio de que houve gargalo populacional no passado. Isto é corroborado pela informação de redução do registro fóssil de pólen de *Mauritia* durante as flutuações climáticas do Terciário e Quaternário nos períodos frios e secos do Glacial. O parâmetro demográfico θ apresentou valor total baixo e significativo (θ = 2,2264E-3, SE=3,9856E-5; IC₁ 95%= 8,138E-4; IC_s 95%= 3,9516E-3), bem como por população (Tabela 5). Baixos valores do parâmetro de θ sugerem populações com tamanho efetivo pequeno e/ou com baixa taxa de substituição, corroborando com o conhecido sobre a baixa taxa de substituição característica do genoma conservado de palmeiras.

Tabela 5. Diversidade genética e parâmetro demográfico theta (θ), referente às populações de *Mauritia flexuosa*, baseados em coalescência pela análise Bayesiana para os dados de cloroplastos combinados para *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6*. π - diversidade nucleotídica; SE- desvio padrão; h - diversidade haplotípica; θ - parâmetro de coalescência (todos os valores de θ não diferenciaram de zero baseado no intervalo de credibilidade inferior (ICi) e superior (ICs)); k- número de haplótipos e n- número de indivíduos por população

Bacia	Código	População	π	SE	h	θ	θ ICi 95%	θ ICs 95%	k	n
Amazônica	CERO	Cerejeiras (RO)	0	0	0	0,0000127	1,03E-05	9,72E-04	1	3
	RMT	Ribeirão Cascalheira (MT)	0,000128	0,000213	0,15385	0,0000162	1,04E-05	2,05E-04	1	13
	DIMT	Diamantino (MT)	0,003833	0,002297	0,49091	0,0010270	0,000237	5,71E-03	4	11
Paraná	AGO	Acreúna (GO)	0	0	0	0,0000139	1,01E-05	4,75E-04	1	16
	AEDF	Parque Ecológico Águas Emendadas (DF)	0,00177	0,001169	0,25714	0,0003250	8,31E-05	1,51E-03	3	15
	CGO	Cidade Goiás (GO)	0,002263	0,001466	0,18182	0,0003360	3,37E-05	1,22E-03	2	11
	CGMS	Campo Grande (MS)	0,00028	0,000324	0,33684	0,0000678	2,75E-05	1,02E-03	2	20
S. Francisco	PMG	Parque Nacional Cavernas do Peruaçu (MG)	0,000166	0,000253	0,2	0,0001060	1,31E-05	6,94E-04	2	10
Tocantins	PATO	Paraíso do Tocantins (TO)	0	0	0	0,0000110	9,95E-06	5,32E-05	1	18
	PFMA	Porto Franco (MA)	0,004299	0,002451	0,11765	0,0000117	9,61E-06	3,12E-04	1	17
	MGO	Mozarlândia (GO)	0,000443	0,000487	0,53333	0,0001270	2,22E-05	1,66E-03	2	6
	NMT	Nova Xavantina (MT)	0	0	0	0,0000467	1,23E-05	9,11E-04	1	16
	SGO	São Miguel do Araguaia (GO)	0,000369	0,000408	0,41667	0,0003040	4,24E-05	3,69E-03	3	9
	NGO	Novo Planalto (GO)	0	0	0	0,0000141	1,00E-05	7,21E-04	1	5
Total			0.003693	0.002025	0,79123	2,2264E-3	8,138E-4	3,9516E-3	11	170

Ao verificar os valores de diversidade nucleotídica por bacia hidrográfica, nota-se que o maior valor de π é o proveniente das populações da Bacia Hidrográfica Amazônica (Tabela 6). Este fato pode ser um indício de que as populações de *M. flexuosa* são provenientes de populações da Amazônia. Isto corrobora com o encontrado para o registro fóssil, que indica que a colonização de *M. flexuosa* pode ter ocorrido a partir de populações remanescentes de áreas que não secaram tanto durante as oscilações climáticas do Terciário/Quaternário, (Rull, 1998). No entanto faz-se necessário sequenciar maior número de indivíduos provenientes da Bacia Amazônica para tecer explicações mais consistentes a respeito.

Tabela 6. Diversidade genética referente às populações de *Mauritia flexuosa* por bacia hidrográfica para os dados de cloroplastos combinados para *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6*. π - diversidade nucleotídica; SE- desvio padrão; *h*- diversidade haplotípica; n- número de indivíduos por bacia hidrográfica no total de 170 indivíduos sequenciados

Bacia hidrográfica	π	SE	<i>h</i>	n
Amazônica	0,003721	0,002106	0,4416	27
Paraná	0,002009	0,001225	0,7964	62
Tocantins	0,002270	0,001350	0,6708	71
São Francisco	0,000166	0,000253	0,2000	10

Considerando que *M. flexuosa* possui uma ampla distribuição geográfica e em manchas, nas regiões alagáveis, e que o genoma das palmeiras é relativamente conservado, é difícil tecer comparações com outras plantas do Cerrado. Para outros estudos com plantas do cerrado, nos quais é importante ressaltar que não foram usadas as mesmas regiões cloroplastidiais que as deste estudo, como para *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae) (Ramos et al., 2007), *Lychnophora ericoides* (Asteraceae) (Collevatti et al., 2009) e *Plathymenia reticulata* (Leguminosae) (Novaes et al., 2010) e *Tibouchina papyrus* (Melastomataceae) (Collevatti et al., 2012), foram encontrados altos valores de *h* (0,804; 0,726; 0,9; 0,912 respectivamente), assim como para *M. flexuosa* (*h* =0,791). Observa-se que a π para *M. flexuosa* apresenta valores muito baixos se comparado aos resultados encontrados para a *L. ericoides*, que apresentou alto valor de π (0,03+/-0,002) (Collevatti et al., 2009). Porém, *P. reticulata* (Novaes, 2010), *H. stigonocarpa* (Ramos, 2007) e *T. papyrus* (Collevatti et al., 2012) que apresentaram valores de π iguais a 0,0025, 0,003 e 0,0029, respectivamente, são similares ao encontrado para *M. flexuosa*.

As regiões cloroplastidiais intergênicas *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6* apresentaram respectivamente seis, três e dois haplótipos (Figura 16). Um estudo filogeográfico desenvolvido para a espécie de palmeira *Daemonorops mollis* baseado na região cloroplastidial *rpL16* também encontrou baixo número de haplótipos (cinco) (Yap, 2010). Em virtude da baixa taxa de substituição do DNA em palmeiras espera-se encontrar um baixo número de haplótipos por região cloroplastidial.

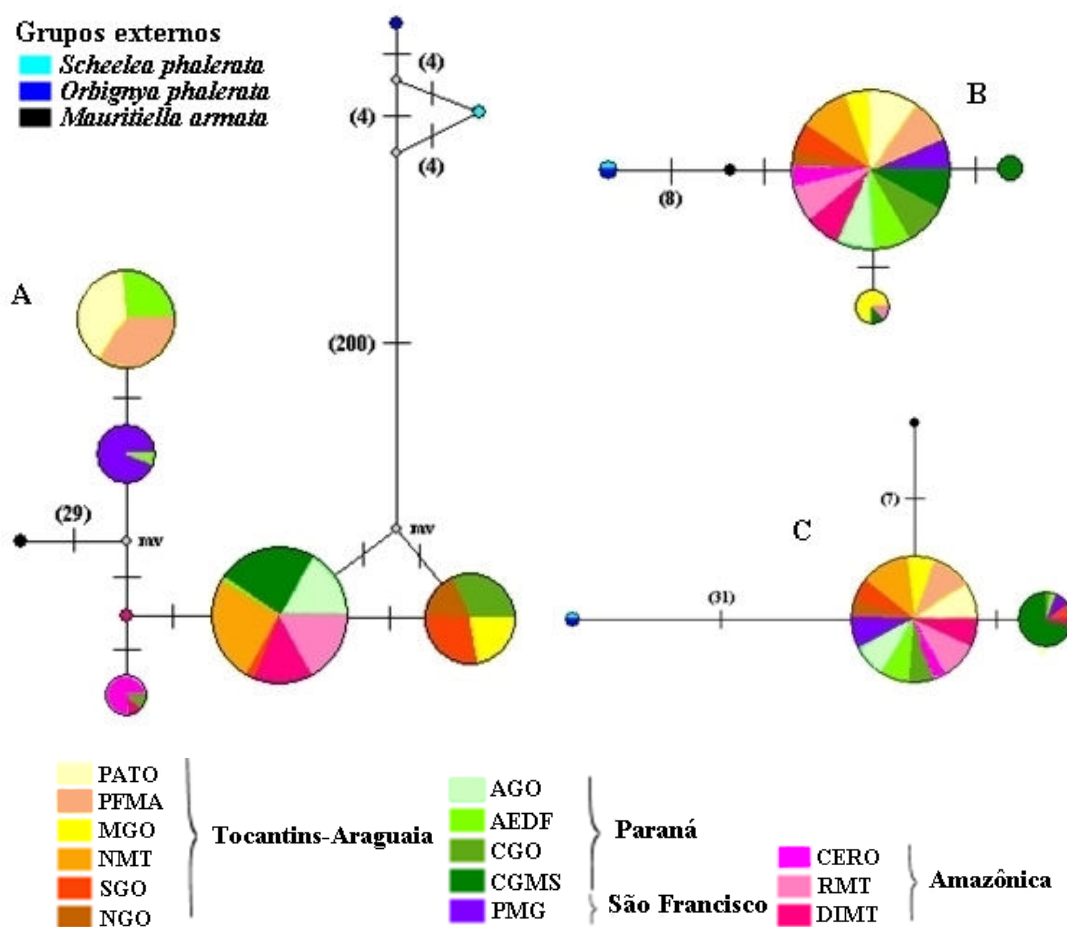


Figura 16. Rede de haplótipos para as regiões cloroplastidiais estudadas para *Mauritia flexuosa*: **A-** *psbA-trnH*; **B-** *trnS-trnG* e **C** *trnC-ycf6*. O tamanho da circunferência é proporcional à frequência de cada haplótipo. Os passos mutacionais estão representados pelos traços (passos mutacionais maiores que um estão representados entre parênteses) e “mv” corresponde ao *median vector* representados pelo círculo de cor cinza. Cerejeiras (RO)- CERO, Ribeirão Cascalheiras (MT)- RMT, Diamantino (MT)- DIMT, Acreúna (GO)- AGO, Estação Ecológica de Águas Emendas (DF)- AEDF, Cidade de Goiás (GO)- CGO, Campo Grande (MS)- CGMS, Parque Nacional Cavernas do Peruaçu (MG)- PMG, Paraíso do Tocantins (TO)- PATO, Porto Franco (MA)- PFMA, Mozarlândia (GO)- MGO, Nova Xavantina (MT)- NMT, São Miguel do Araguaia (GO)- SGO, Novo Planalto (GO)- NGO

As regiões intergênicas combinadas apresentaram 11 haplótipos para os 170 indivíduos sequenciados (Tabela 7, Figura 17, Figura 18). Foram encontrados cinco exclusivos das populações de CGMS (Campo Grande-MS), DMT (Diamantino-MT), MGO (Mozarlândia -GO), SGO (São Miguel do Araguaia- GO) e PMG (Parque Nacional Cavernas do Peruaçu-MG). No entanto, estas populações possuem representantes em haplótipos compartilhados por outras populações. Desta forma, apesar de terem sido encontrados agrupamentos distintos por localidade na análise filogenética (*programa Network*), estes agrupamentos não suportam a hipótese inicial de que as principais bacias hidrográficas formam quebras filogeográficas importantes para distribuição das linhagens maternas de *M. flexuosa*. Nota-se que há arranjo incompleto de linhagens com retenção de polimorfismo ancestral e, portanto não foi encontrada relação entre a distribuição das linhagens genéticas e o espaço geográfico.

Tabela 7. Haplótipos de *Mauritia flexuosa* baseados nos dados cloroplastidiais combinados para as regiões *psbA-trnH*, *trnS-trnG* e *trnC-ycf6* com os seus respectivos sítios polimórficos e o número de indivíduos correspondentes (N)

cpDNA Concatenado										
		<i>psba/trnH</i>					<i>trnS/trnG</i>		<i>trnC/ycf6</i>	
		1	1	1	2		4	5	8	
Haplótipos		2	0	3	8	0	1	1	0	N
		7	4	8	4	9	9	2	2	
H01	C	A	C	A	A		G	G	T	5
H02	.	.	A	.	.		.	.	.	1
H03	T	.	A	T	.		.	.	.	26
H04	T	.	A	T	.		.	.	.	2
H05	T	.	A	T	.		A	.	.	54
H06	T	.	A	.	.		.	.	G	18
H07	T	.	A	T	.		.	.	G	1
H08	T	.	A	.	.		.	A	G	4
H09	T	-	A	.	T		.	.	.	48
H10	.	-	A	.	T		.	.	.	10
H11	.	-	A	.	T		.	.	G	1

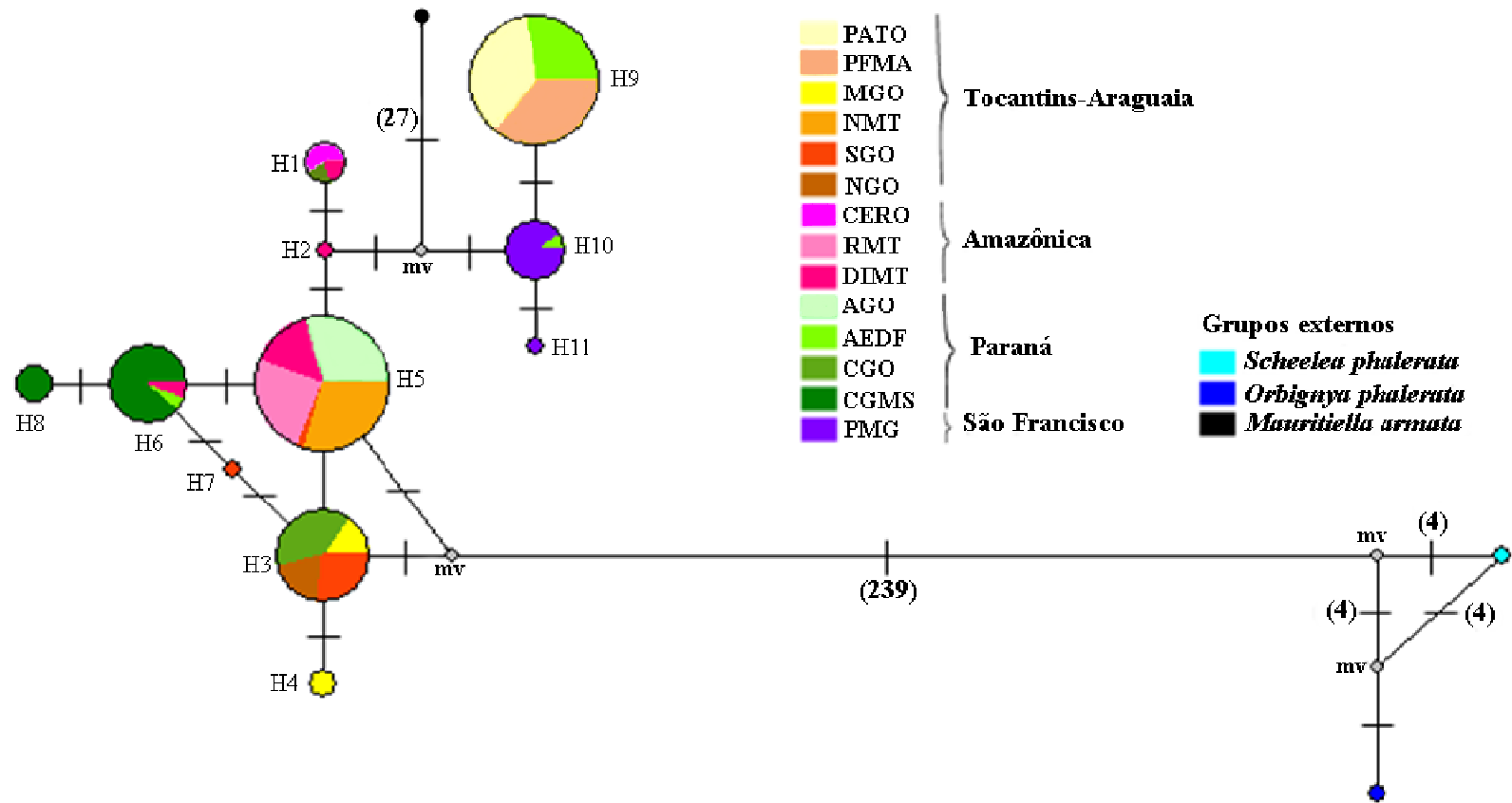


Figura 17. Rede de haplótipo para as regiões cloroplastidiais concatenadas de *Mauritia flexuosa*. O tamanho da circunferência é proporcional a frequência do haplótipo. Os passos mutacionais estão representados pelos traços (passos mutacionais maiores que um estão representados entre parênteses) e “mv” corresponde ao *median vector* representados pelo círculo de cor cinza. Cerejeiras (RO)-CERO, Ribeirão Cascalheiras (MT)- RMT, Diamantino (MT)- DIMT, Acreúna (GO)- AGO, Estação Ecológica de Águas Emendas (DF)- AEDF, Cidade de Goiás (GO)- CGO, Campo Grande (MS)- CGMS, Parque Nacional Cavernas do Peruaçu (MG)- PMG, Paraíso do Tocantins (TO)- PATO, Porto Franco (MA)- PFMA, Mozarlândia (GO)- MGO, Nova Xavantina (MT)- NMT, São Miguel do Araguaia (GO)- SGO, Novo Planalto (GO)- NGO

O fenômeno de Águas Emendadas na Estação Ecológica de Águas Emendadas (AEDF) consiste no deságue das águas em duas direções opostas ao seu norte e sul. Ao norte, o Córrego Vereda Grande, que contribui para formação da Bacia do Tocantins/ Amazônica e ao sul para a formação da Bacia Platina. A princípio pensou-se que poderia haver uma relação entre padrão de deságue norte/sul de AEDF, com a distribuição da variedade genética nas bacias hidrográficas. Entretanto, não foi verificado um padrão que refletisse neste fenômeno de deságue, pois as populações de Mozarlândia-GO, São Miguel do Araguaia-GO, Novo Planalto-GO e Nova Xavantina-MT-GO, pertencentes à Bacia do Tocantins/ Araguaia, compartilham haplótipos com indivíduos das populações da Bacia do Paraná e Amazônica (Figura 17).

Pela análise de variância molecular (AMOVA, Excoffier et al., 1992) encontrou-se uma diferenciação elevada e significativa entre as populações ($F_{ST}= 0,75244$; $p<0,001$). A rede de haplótipos, e a elevada diferenciação entre as populações de *M. flexuosa*, mostram que não há evidências da influência do percurso dos principais rios, e suas bacias hidrográficas, na história evolutiva de *M. flexuosa*. A diferenciação genética encontra-se entre as populações, e não por bacias hidrográficas. Sendo assim, as grandes áreas de terra seca que rodeiam as áreas alagadas onde ocorrem os buritizais, funcionariam como barreiras ao fluxo gênico dessa espécie.

O padrão encontrado para o parâmetro demográfico θ , e para as diversidades nucleotídica e haplotípica por população, mostra regiões geográficas com uma relativa uniformidade genética, separadas por quebras abruptas nas diversidades, caracterizando uma colonização por setores (Figura18). Estes setores são uma estrutura transitória para populações com elevada capacidade dispersiva, porém elas também podem estar presentes por um longo período em espécies com mobilidade limitada, ou para componentes do genoma experimentando fluxo gênico reduzido, como observado para populações de *M. flexuosa*.

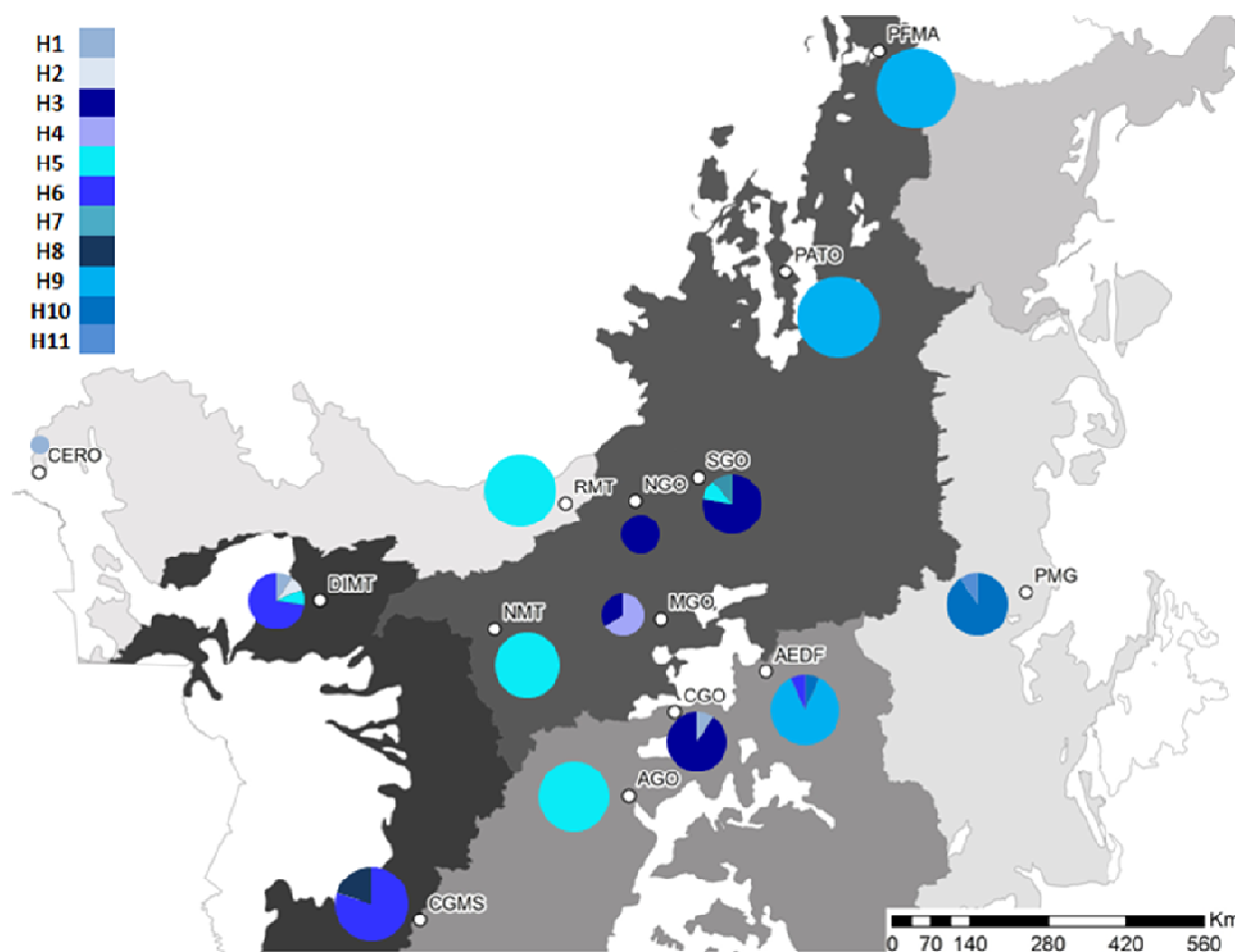


Figura 18. Distribuição geográfica dos haplótipos baseado nos dados cloroplastidiais combinados, para 170 indivíduos. O tamanho da circunferência é proporcional a frequência do haplótipo

As comparações par a par entre os valores de F_{ST} referente à maioria das populações mostram uma diferenciação significativa entre elas, evidenciada pelo F_{ST} global (Tabela 8). Entretanto a comparação de F_{ST} par a par entre algumas populações mostrou-se não significativa, indicando uma possível formação de haplogrupos. Comparando os valores de F_{ST} par a par da população de AGE-Parque Ecológico de Águas Emendadas com as demais, observam-se valores significativos, exceto quando comparados com as populações de PATO- Paraíso do Tocantins (valor de $p = 0,21622 \pm 0,0338$) e PFMA- Porto Franco (valor de $p = 0,63964 \pm 0,0582$). Os valores de F_{ST} par a par, comparando a população de PFMA com as demais, também se apresentaram todos significativos, exceto para as populações de AGE ($0,63964 \pm 0,0582$) e PATO (valor de $p = 0,48649 \pm 0,0511$). Estas populações refletem na formação do haplótipo nove.

Tabela 8. Valores de p do F_{ST} par a par entre as populações de *Mauritia flexuosa*. Os asteriscos representam os valores não significativos e SE- desvio padrão. Cerejeiras (RO)- CERO, Ribeirão Cascalheiras (MT)- RMT, Diamantino (MT)- DIMT, Acreúna (GO)- AGO, Estação Ecológica de Águas Emendas (DF)- AEDF, Cidade de Goiás (GO)- CGO, Campo Grande (MS)- CGMS, Parque Nacional Cavernas do Peruaçu (MG)- PMG, Paraíso do Tocantins (TO)- PATO, Porto Franco (MA)- PFMA, Mozarlândia (GO)- MGO, Nova Xavantina (MT)- NMT, São Miguel do Araguaia (GO)- SGO, Novo Planalto (GO)- NGO

[illegible]

Comparando os valores de F_{ST} par a par da população de CGO- Cidade de Goiás com as demais populações, observam-se valores significativos, exceto quando comparados com as populações de DIMIT- Diamantino (valor de $p= 0,153+-0,038$), MGO- Mozarlândia (valor de $p= 0,49550+-0,0339$), NGO- Novo Planalto (valor de $p= 0,990+-0,003$) e SGO= São Miguel do Araguaia (valor de $p= 0,873+-0,033$) de CGO- Cidade de Goiás (valor de $p= 0,15315+-0,0385$). Estas populações refletem nos haplótipos três e quatro. Comparando os valores de F_{ST} par a par da população de AGO- Acreúna com as demais populações, observam-se valores significativos, exceto quando comparados com as populações de NMT- Nova Xavantina (valor de $p= 0,990+-0,003$) DIMIT- Diamantino (valor de $p= 0,072+-0,018$), RMT- Ribeirão Cascalheira (valor de $p= 0,459+-0,043$). Estas populações refletem na formação do haplótipo cinco. O haplótipo um (formado por representantes das populações de CERO- Cerejeiras, DIMIT- Diamantino e CGO- Cidade de Goiás), o haplótipo seis (formado por populações de AGO- Acreúna, DIMIT- Diamantino e CGMS- Campo) e o haplótipo 10 (formado por populações de PMG- Parque Nacional Cavernas do Peruaçu e AEDF- Estação Ecológica de Águas Emendadas) apresentaram valores significativos de F_{ST} par a par entre as populações que os compõem. Estas populações possuem poucos representantes que compartilham os haplótipos citados.

Os valores de F_{ST} par a par que podem ser usados como um termo genérico para as distâncias genéticas entre as populações (Slatkin, 1995). A partir disto, sugere-se que as populações estudadas de *M. flexuosa* reflitam três possíveis haplogrupos. O primeiro deles comportaria as populações da Bacia Amazônica. O registro fóssil sugere que as populações amazônicas, provavelmente, deram origem às populações de *M. flexuosa* no Brasil Central. Os dados moleculares também sugestionam isto quando se observa que o maior valor de diversidade nucleotídica encontrada por bacia hidrográfica foi proveniente da Bacia Amazônica e os maiores valores de diversidade haplotípica foram da população de Mozarlândia-GO (Tocantins/Amazônica) seguida de Diamantino-MT (Amazônica). Corroborando com esta idéia foram encontrados representantes das populações da bacia Amazônica compartilhando haplótipos com outras populações não amazônicas. Os haplótipos cinco e seis são compartilhados por representantes da bacia do Paraná, do Tocantins e Amazônica. O haplótipo um é composto apenas por representantes da bacia Amazônica (CERO- Cerejeiras, DIMIT- Diamantino e RMT- Ribeirão Cascalheiras), e apresentaram valores significativos de F_{ST} par a par entre estas populações. Para ter um suporte melhor a respeito de um possível haplogrupo da Bacia Amazônica,

faz-se necessário sequenciar um número maior de representantes dessa bacia. Neste trabalho foram utilizados 27 indivíduos (Cerejeiras-três, Ribeirão Cascalheira-13 e Diamantino-11 indivíduos sequenciados).

O segundo grande haplogrupo seria formado pelos haplótipos compartilhados pelas populações localizadas mais ao centro-oeste. Estas populações contemplam os haplótipos três, quatro, sete, seis oito e cinco. O terceiro haplogrupo comportaria o haplótipo nove, 10 e 11, apesar de determinadas populações que compõem alguns haplótipos destes grupos apresentam valores de F_{ST} par a par significativos entre si.

O alto e significativo valor de F_{ST} encontrado, também pode ser um indicio de que a dispersão dos frutos de *M. flexuosa* é, em grande parte, restrita localmente. Villalobos (1994) verificou isto em um estudo no qual objetivo era determinar quais os frugívoros associados a *M. flexuosa* e a importância desses animais para a planta, principalmente em termos da dispersão de sementes. Os psitacídeos destacam se como importantes dispersores de semente, principalmente *Ara manilata*, pela sua capacidade para dispersar a semente em algum lugar propício para germinação. Quando os psitacídeos não carregam a semente, eles derrubam os frutos inteiros ou parcialmente comidos possibilitando assim a utilização dos mesmos por frugívoros terrestres. Alguns comportamentos no trabalho de Villalobos (1994) foram observados: os pequenos roedores carregam os frutos e o estocam, a anta (*Tapirus terrestris*) se mantém no local onde come os frutos e não os carrega durante as refeições e os psitacídeos derrubaram a maioria dos frutos (>50%) a menos de um metro de distância de palmeira onde se alimentam. Portanto nas veredas a distribuição das sementes por animais a partir da fonte diminui com um aumento da distância em sua grande maioria. Quanto à dispersão por fezes dos mamíferos ou mesmo levadas pelos psitacídeos o destino é incerto, pois frequentam tanto áreas de Cerrado quando outras veredas, podendo deixar a semente do buriti em *habitat* favorável ou não. O padrão espacial da dispersão de sementes afeta diretamente o recrutamento dos indivíduos na população, e, em última instância, a estrutura genética das populações, a diversidade de espécies e o padrão espacial das comunidades (Harms et al., 2000).

No estudo filogeográfico realizado nas ilhas Filipinas, Ásia encontrou-se para a palmeira *Daemonorops mollis* valores elevados de F_{ST} = 0,720, provavelmente porque as populações amostradas estão estruturadas geneticamente em três grupos distintos, distribuídos nas seis ilhas estudadas (Yap, 2010). Trénel et al. (2008), em um estudo sobre o isolamento histórico e o fluxo gênico nos Andes para a palmeira *Ceroxylon echinulatum*,

revelou uma forte e significativa estruturação genética através das comparações de F_{ST} entre as sete populações estudadas distribuídas ao longo da cadeia dos Andes (os valores de F_{ST} par a par variaram entre 0,12 a 0,66). Outros estudos filogeográficos no Cerrado também mostram histórias evolutivas de espécies arbóreas que encontraram valores elevados de F_{ST} . As populações de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) (Collevatti, 2003), *H. stigonocarpa* (Fabaceae) (Ramos et al. 2007), *L. ericoides* (Asteraceae) (Collevatti et al., 2009) e *T. papyrus* (Melastomataceae) (Collevatti et al., 2012), por exemplo, apresentaram os valores de 0,7803; 0,692; 0,837; 0,684 respectivamente. Os estudos acima citados para o Cerrado e para palmeiras obtiveram os altos valores de F_{ST} similarmente a *M. flexuosa*, devido a subdivisões na distribuição dos haplótipos em haplogrupos geneticamente diferenciados por região geográfica.

O teste de Mantel sugere que a diferenciação entre as populações está positivamente correlacionada à distância geográfica ($r^2 = 0,287219$; valor de $p = 0,0570$), entretanto fatores históricos, relativos a dispersão e oscilações climáticas do Terciário/Quaternário, também podem ter contribuído para esta diferenciação. Já em um estudo para a espécie de palmeira *Ceroxylon echinulatum*, apesar de o teste de Mantel também ser significativo, ($r^2 = 0,90$, valor de $p \leq 0,001$) a diferenciação entre as populações é limitada principalmente pela distância geográfica o que foi justificado devido a distribuição seguindo um modelo em U ao longo da cadeia dos Andes, e portanto algumas populações não mais apresentarem mais fluxo gênico atual (Trénel et al., 2008). Collevatti et al. (2009) também encontraram correlação positiva entre a diferenciação das populações e a distância geográfica para populações de *L. ericoides*. Entretanto para populações de *C. brasiliense*, uma espécie de distribuição ampla como *M. flexuosa* também não foi encontrada relação significativa entre a diferenciação das populações e a distância geográfica o que sugere uma maior influência dos fatores históricos na diferenciação genética entre estas populações (dados não publicados - Collevatti et al., 2003).

A distribuição de *mismatch* (0,034; $p = 0,7467$) sugere que não há sinal de retração recente no tamanho das populações seguido por expansão. Para o teste de neutralidade D de Tajima (-1,955; $p = 0,00210$) o resultado foi de significativo, o que indicaria expansão populacional. Entretanto para que o valor de D negativo e significativo seja considerado como indicativo de expansão populacional é preciso que seja muito elevado. A seleção direcional positiva (*selective sweep*) também pode deixar o mesmo sinal na genealogia que a expansão demográfica gerando resultados significativos que não

propriamente indiquem expansão (Tajima, 1989; Fu, 1997). O valor de D apesar de negativo e significativo é pequeno e poderia indicar tamanho populacional constante. Para populações em equilíbrio demográfico, espera-se encontrar grandes diferenças par a par refletidas em um gráfico multimodal da distribuição de *mismatch* e para as populações de *M. flexuosa* encontrou-se um gráfico bimodal, com pequena proporção de diferenças par a par (Figura 19). Uma justificativa seria que a pequena proporção de diferenças par a par encontrada não é devido a uma expansão demográfica recente, mas sim, porque o tempo não foi suficiente para que o genoma de populações de *M. flexuosa* sofresse alterações que refletissem em grandes diferenças par a par entre os pares de haplótipos observados.

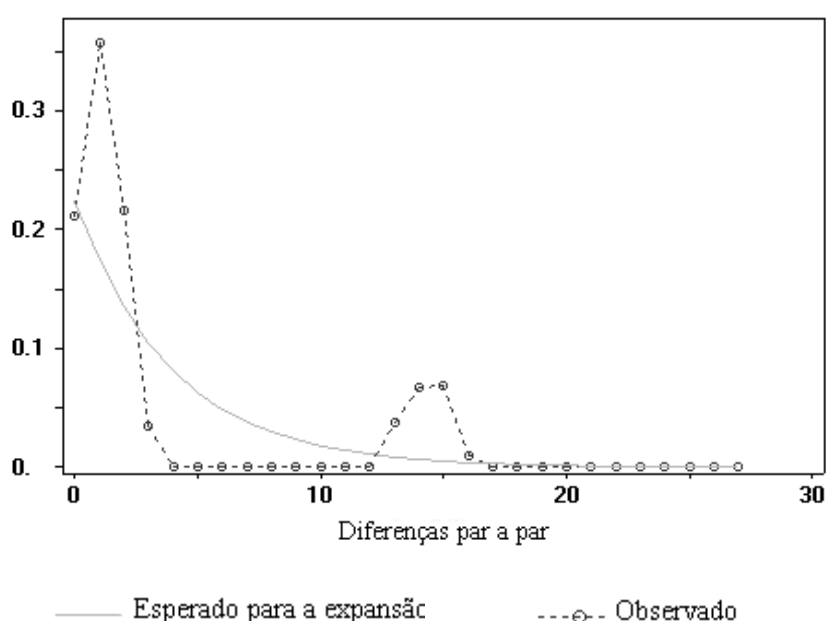


Figura 19. Distribuição de *mismatch* Harpending's Raggedness para as populações de *M. flexuosa* sem sinal de retração recente seguido por expansão ($p > 0,05$)

As análises de coalescência sugerem que as populações não estão em expansão, mas apresentam tamanho populacional constante e parâmetro de mutação muito baixo θ (Tabela 5). As análises de coalescência combinadas apresentaram valores baixos, porém significativos para o parâmetro demográfico θ ($\theta = 2,2264E-3$, $SE = 3,9856E-5$; IC_i 95% = $8,138E-4$; IC_s 95% = $3,9516E-3$). Para o parâmetro demográfico g geral ($g = 402, 402$, $SE = 4,8084$, IC_i 95% = $-334,961$, IC_s 95% = $999,91$) e por população foram encontrados valores positivos e não significativos (Tabela 9).

Valores elevados e positivos de g indicariam crescimento populacional (a população era menor no passado e esta se tornando maior), entretanto se a taxa de μ for muito baixa provavelmente não seria visível quase nenhum crescimento tanto para os

valores de g quanto θ (Kuhner, 2006). As análises de coalêscencia, assim como, o indicado pela distribuição de *mismatch* sugerem que as populações não estão em expansão, mas apresentam um tamanho populacional constante. O parâmetro θ geral e por população muito baixo confirma a baixa taxa de substituição característica do genoma de palmeiras e refletiu também nos poucos haplótipos encontrados para *M. flexuosa* (Tabela 5). O número de migrantes por geração para a população foi baixo para todas as comparações par a par entre as populações de *M. flexuosa* (Tabela 10). O padrão encontrado para os parâmetros demográficos para as populações de *M. flexuosa* também se apresentaram para o estudo filogeográfico de *T. papyrus* (Collevatti et al., 2012). Os demais estudos filogeográficos de espécies arbóreas do Cerrado apresentam retração no tamanho populacional (Collevatti et al., 2009) ou expansão (Ramos et al., 2007; Novaes, 2010).

Tabela 9. Parâmetros demográficos para as populações de *Mauritia flexuosa* baseada em coalêscência por análise Bayesiana para os dados cloroplastidiais combinados, g é o parâmetro de crescimento exponencial; IC_i- intervalo de confiança inferior; IC_s- intervalo de confiança superior

Código	Populações	g	gIC_i 95%	g IC _s 95%
AGO	Acreúna (GO)	770.7377	-514.5597	976.8517
AEDF	Parque Ecológico Águas Emendadas (DF)	887.7605	-456.481	986.3066
CGMS	Campo Grande (MS)	249.6142	-468.9594	969.5239
CERO	Cerejeiras (RO)	536.8736	-460.5503	978.1975
CGO	Cidade Goiás (GO)	890.6455	-474.3208	990.3015
DMT	Diamantino (MT)	905.6542	-439.4071	1002.51
MGO	Mozarlândia (GO)	637.7529	-459.9225	989.1562
NMT	Nova Xavantina (MT)	804.5051	-459.5106	982.0889
NGO	Novo Planalto (GO)	885.6552	-479.1003	984.3684
PATO	Paraíso do Tocantins (TO)	734.1741	-469.1049	982.9378
PMG	Parque Nacional Caverna do Peruaçu (MG)	496.1822	-452.6702	980.6739
PFMA	Porto Franco (MA)	730.6853	-548.6836	975.0236
RMT	Ribeirão Cascalheira (MT)	461.7441	-468.0444	976.6195
SGO	São Miguel do Araguaia (GO)	874.7251	-461.8703	989.4745

Tabela 10. Número de migrantes por geração para as populações de *Mauritia flexuosa* baseada em coalescência por análise Bayesiana para os dados cloroplastidiais combinados. A direção da migração é das populações fonte na linha para as populações receptoras na coluna

[illegible]

As análises de coalescência geradas, considerando o genoma cloroplastidial, indicaram um tempo do ancestral comum mais recente (T_{MRCA}) para *M. flexuosa*, *Mauritiella armata*, *Orbignya phalerata* e *Scheelea phalerata* em 9.931.375 anos antes do presente (Figura 20). O grupo irmão *M. flexuosa* e *Mauritiella armata* se comparados a *O. phalerata* e *S. phalerata* apresentaram tempos de coalescência mais profundos e divergiram em 1.909.208 anos antes do presente enquanto as espécies *O. phalerata* e *S. phalerata* divergiram em 359.142 anos antes do presente.

Pela análise de coalescência, o indivíduo da espécie *Mauritiella armata* (Figura 20), utilizado como grupo externo, comportou-se como tal, saindo como grupo irmão da espécie *M. flexuosa*. Entretanto, na rede de haplótipos (Figura 17) e nas análises bayesianas (Figura 21), *Mauritiella armata* emergiu junto ao grupo interno, tornando *M. flexuosa* uma espécie parafilética. Isto indica que estudos taxonômicos mais detalhados devem ser realizados no grupo *Mauritiella* e *Mauritia*, com o objetivo de confirmar o status do gênero *Mauritiella*, e as espécies contidas em ambos. A árvore gerada pela análise bayesiana foi politômica e não deixou clara a relação entre os indivíduos da espécie *M. flexuosa*, porém é possível visualizar um agrupamento de indivíduos da Bacia Amazônica juntamente a *Mauritiella armata*.

Os dados moleculares são concordantes aos palinológicos (Muller, 1970; Rull, 1998; 2001) encontrando tempos de coalescência antigos para *M. flexuosa*. O T_{MRCA} para todos os haplótipos de *M. flexuosa* foi estimado em 1.121.876 anos antes do presente, com intervalo de confiança a 95% mínimos e máximos entre 587.330 e 4.964.000 anos antes do presente. Este ancestral divergiu em 1.121.876 anos antes do presente em duas linhagens que originaram: um grupo contendo os haplótipos H_1 e H_2 , os mais antigos e representantes das populações CERO, DMT e CGO e os demais haplótipos (H_3 , H_4 , H_5 , H_6 , H_7 , H_8 , H_9 , H_{10} , H_{11}) formaram outro grupo. Este grupo de haplótipos divergiu em 701.778 anos antes do presente em duas linhagens: uma contendo H_3 e H_4 com maior número de representantes da bacia do Tocantins/ Araguaia e as demais linhagens dentro de outro grupo (H_5 , H_6 , H_7 , H_8 , H_9 , H_{10} , H_{11}). Em 663.018 anos antes do presente o grupo restante se dividiu em os haplótipos H_5 , H_6 , H_7 com representantes das bacias Paraná e Tocantins e o grupo mais recente englobando os H_9 , H_{10} , H_{11} das bacias do Tocantins, Paraná e São Francisco. Observando os tempos de coalescência nota-se que o grupo de haplótipo mais antigo (H_1 e H_2) é basicamente composto por populações da bacia Amazônica.

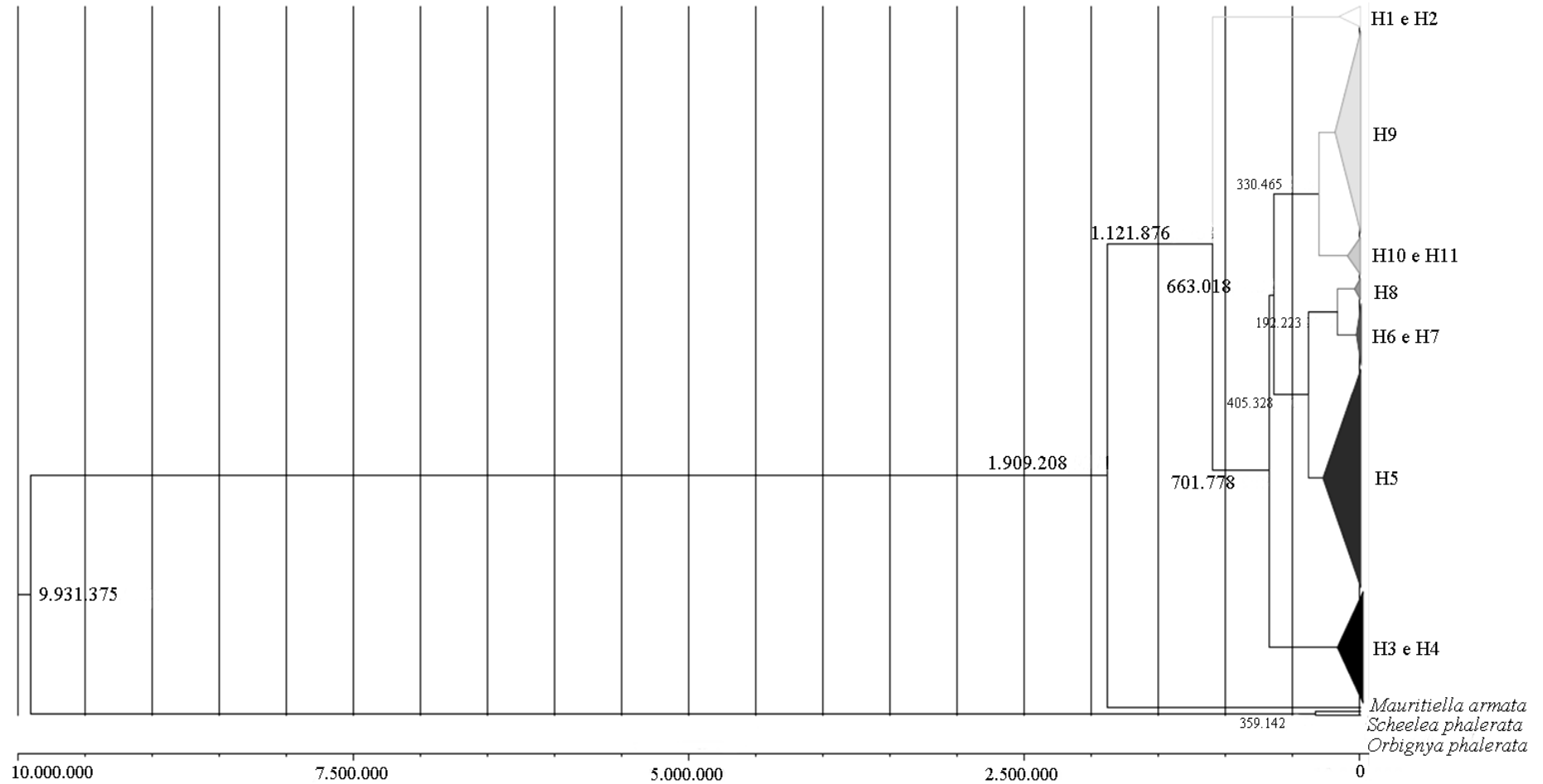


Figura 20. Relações entre as linhagens e o T_{MRCA} de 170 indivíduos distribuídos em 14 populações de *Mauritia flexuosa* baseado em análises de coalescência bayesianas para sequências de cloroplasto. A escala de tempo está em anos antes do presente

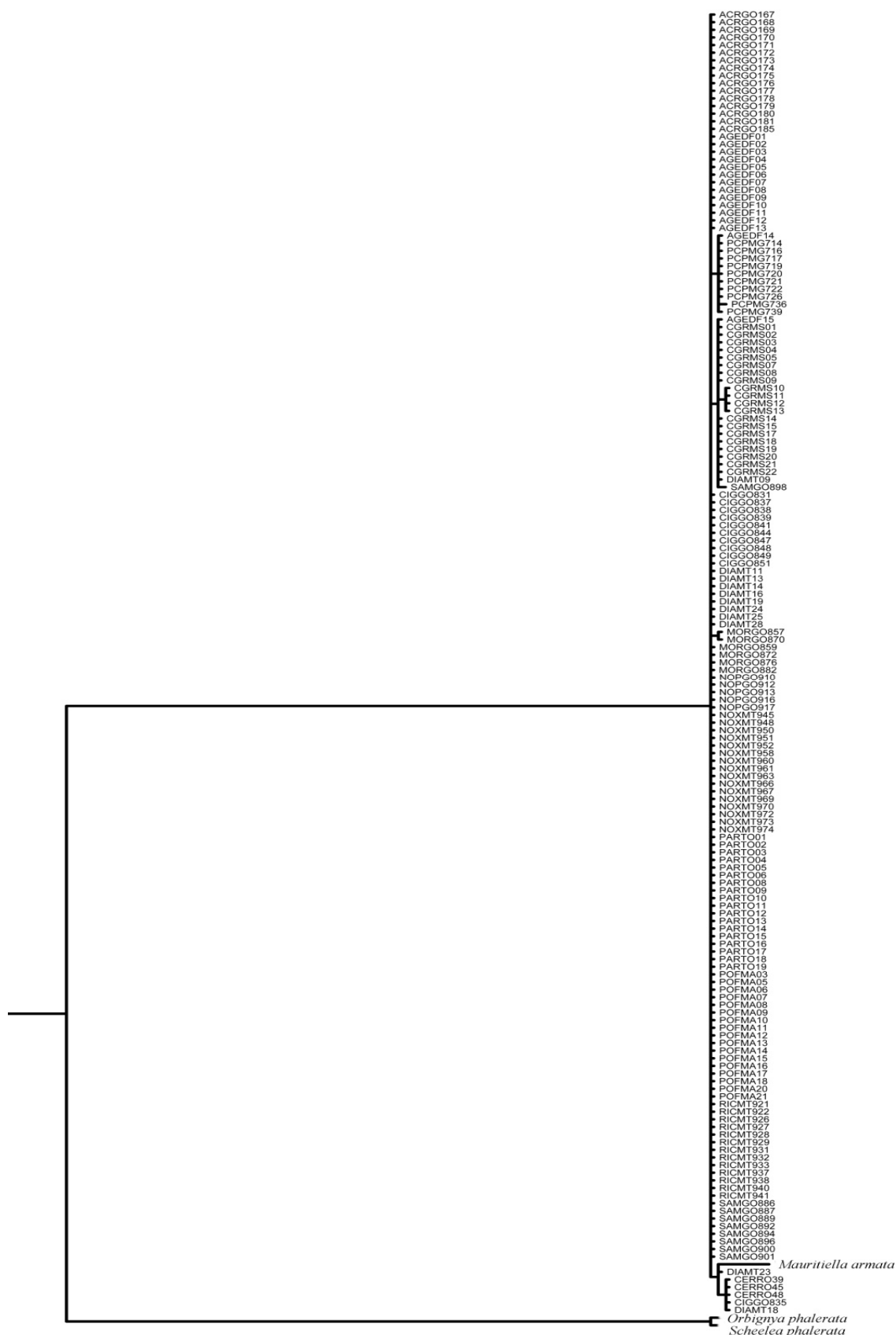


Figura 21. Árvore filogenética por análise bayesiana dos 170 representantes de *M. flexuosa* estudados

Como a dinâmica de deságue e a persistência dos rios das bacias hidrográficas se alteram ao longo dos períodos secos e frios do glacial durante o Terciário/Quaternário e que a ocorrência de *M. flexuosa* está diretamente associada a áreas alagadas, sua área de distribuição pode ter sido reduzida e fragmentada durante o Terciário por não haver habitat favorável a sua persistência. Os haplótipos mais antigos e basais de *M. flexuosa* H₁ e H₂ pertencentes à bacia hidrográfica Amazônica corroboram com a idéia de uma possível colonização por populações da Amazônia. Isto é suportado também pelo registro fóssil de *Mauritia* que mostra uma expansão proveniente da região Amazônica, sugerindo que estas populações mantiveram refúgios úmidos durante o Terciário (Rull, 1998), e seus remanescentes foram interconectados durante o Quaternário-Pleistoceno (úmidos interglaciais).

As evidências palinológicas (Rull, 1998) sugerem que a distribuição atual do gênero *Mauritia* pode ser o resultado da redução e separação da abrangência geográfica de sua distribuição, ao invés de ter ocorrido propriamente um evento de expansão. Isto corrobora com os resultados encontrados para distribuição de *mismatch* e para os parâmetros demográficos g e θ (exceto D de Tajima), que sugerem que não houve retração recente seguida de expansão, mas que estas populações apresentam um tamanho populacional constante. Rull (1998) em um estudo biogeográfico baseado na palinologia de *Mauritia*, não havia descartado a hipótese de uma expansão recente, pós-glacial, caso alguma evidência fosse apresentada, porém, não houve suporte estatístico para tal idéia até o presente momento. A baixa diversidade genética encontrada neste trabalho, e a hipótese de uma possível colonização por setores provenientes das áreas da Amazônia, corroboram o que já foi encontrado pelo registro fóssil.

5 CONCLUSÃO

As principais bacias hidrográficas não formam quebras filogeográficas importantes para distribuição das linhagens maternas de *M. flexuosa*. As áreas de terra seca, que rodeiam as áreas alagadas onde ocorrem os buritizais, comportam-se como barreiras ao fluxo gênico para estas populações. Apesar de ser uma espécie dióica, a diversidade genética das populações estudadas de *M. flexuosa* foi baixa. O padrão encontrado para o parâmetro demográfico θ , e para as diversidades nucleotídica e haplotípica por população, mostra regiões geográficas com uma relativa uniformidade genética, separadas por quebras abruptas nas diversidades caracterizando uma colonização por setores. As populações de *M. flexuosa* aparentemente se encontram em equilíbrio demográfico e apresentam tempos de coalescência antigos.

O estudo filogeográfico e a estrutura genética do Buriti nas veredas do Brasil Central geraram maiores detalhes sobre sua história evolutiva e dinâmica populacional, auxiliando no conhecimento de fatores biológicos desta espécie de palmeira que possam ser aplicados a conservação e planos de manejo. Para acrescentar informações a respeito da história evolutiva de *M. flexuosa* faz necessário estudo com modelagem e simulações a partir do registro fóssil, além de um estudo filogeográfico com populações de *M. flexuosa* provenientes da Amazônia e pesquisas filogeográficas comparativas entre os gêneros *Mauritia* e *Mauritiella*.

6 REFERÊNCIAS

AB'SÁBER, A. **Os Domínios de Natureza no Brasil Potencialidades Paisagísticas**. Ateliê Editorial, São Paulo, SP, 2005. 159p.

ABSY, M. L.; HAMMEN, T. V. D. Some paleoecological data from Rondonia, southern part of the Amazon Basin. **Acta Amazon**, v. 6, n. 3, p. 293-299, 1976.

ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; ALCANTARA JR., P.; MOREIRA, S. G. C. Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. **Vibrational Spectroscopy**, v. 33, n. 1-2, p. 127-131, 2003.

ALMEIDA, S. P. **Cerrado: Aproveitamento alimentar**. EMBRAPA-CPAC, Planaltina, DF, 1998. 188p.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An ordinal classification for the families of flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 85, n. 4, p. 531-553, 1998.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, n. 4, p. 399-436, 2003.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.

ANDREAZZI, C. S.; PIRES, A. S.; FERNANDEZ, F. A. S. Mamíferos e palmeiras neotropicais: interações em paisagens fragmentadas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 554-574, 2009.

AQUINO, R.; BODMER, R. E. Plantas útiles en la alimentación de primates en la cuenca del río Samiria, Amazonia Peruana. **Neotropical Primates**, v. 12, n.1, p.1-6, 2004.

ARAÚJO, M. G.; BARBOSA, A. A. A.; ARANTES, A. A.; AMARAL, A. F. Composição florística de veredas no Município de Uberlândia, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 475-493, 2002.

ASMUSSEN, C. B.; CHASE, M. W. Coding and Noncoding Plastid Dna in Palm Systematics. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 6, p. 1103-1117, 2001.

ASMUSSEN, C. B.; DRANSFIELD, J.; DEICKMANN, V.; BARFOD, A. S.; PINTAUD, J. C.; BAKERA, W. J. A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 1, p. 15-38, 2005.

AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 489-522, 1987.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Chapman & Hall, New York, 1994. 511p.

AVISE, J. C. **Phylogeography: The history and formation of species**. Harvard University press, Cambridge, Massachusetts, 2000. 447p.

AVISE J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of Biogeography**, v. 36, n. 1, p. 3-15, 2009.

BAKER, W. J.; ASMUSSEN, C. B.; BARROW, S. C.; DRANSFIELD, J.; HEDDERSON, T. A. A phylogenetic study of the palm family (Palmae) based on chloroplast DNA sequences from the trnL - trnF region. **Plant Systematics and Evolution**, Austria, v. 219, n. 1-2, p. 111-126, 1999a.

BAKER, W. J.; DRANSFIELD, J.; HARLEY, M. M.; BRUNEAU, A. Morphology and cladistic analysis of subfamily Calamoideae (Palmae). *In*: HENDERSON, A.; BORCHSENIUS, F. (Eds.) **Evolution and Classification of Palms**, New York Botanical Garden. v. 83, p. 307-324, 1999b.

BAKER, W. J.; HEDDERSON, T. A.; DRANSFIELD, J. Molecular Phylogenetics of Subfamily Calamoideae (Palmae) Based on nrDNA ITS and cpDNA rps16 Intron Sequence Data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 14, n. 2, p. 195-217, 2000.

BAKER, W. J.; SAVOLAINEN, V.; ASMUSSEN-LANGE, C. B.; CHASE, M. W.; DRANSFIELD, J.; FOREST, F.; HARLEY, M. M.; UHL, N. W.; WILKINSON, M. Complete Generic-Level Phylogenetic Analyses of Palms (Arecaceae) with Comparisons of Supertree and Supermatrix Approaches. **Systematic Biology**, v. 58, n. 2, p. 240-256, 2009.

BALICK M. J. Mauritiella (Palmae) Reconsidered. **Brittonia**, v. 33, n. 3, p. 459-460, 1981.

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology Evolution**, v. 16, n. 1, p. 37-48, 1999.

BARBERI, M.; SALGADO-LABOURIAU, M. L.; SUGUIO, K. Paleovegetation and paleoclimate of “Vereda Águas Emendadas”, central Brazil. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 13, n. 3, p. 241-254, 2000.

BEHEREGARAY, L. B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 17, p. 3754-3774, 2008.

BEERLI, P.; FELSESTEIN, J. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations using a coalescent approach. **Proceedings of National Academy Sciences of the United States of America PNAS**, v. 98, n. 8, p. 4563-4568, 2001.

BORSCH, T.; QUANDT, D. Mutational dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA. **Plant Systematics and Evolution**, v. 282, n. 3-4, p. 169–199, 2009.

BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, DOS RECURSOS HÍDRICOS E DA AMAZÔNIA LEGAL. **Recursos Hídricos no Brasil**. Secretaria de Recursos Hídricos, p. 1-33, 1998.

BRASIL, O CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS – CNRH. **Resolução nº. 32**, de 15 de outubro de 2003.

BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Recursos hídricos: componente da série de relatórios sobre o estado e perspectivas do meio ambiente no Brasil**. Agência Nacional de Águas, Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Brasília, MMA; ANA: il. (GEO Brasil Série Temática: GEO Brasil Recursos Hídricos), 264p., 2007.

BRIGHTSMITH, D.; BRAVO, A. Ecology and management of nesting blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*) in Mauritia palm swamps. **Biodiversity and Conservation**. v. 15, n. 13, p. 4271–4287, 2006.

BRITO, P. H.; EDWARDS, S. V. Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. **Genetica**, v. 135, n. 3, p. 439-55, 2009.

BRITTEN, R. J.; ROWEN, L.; WILLIAMS, J.; CAMERON A. R. Majority of divergence between closely related DNA samples is due to indels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 8, p. 4661–4665, 2003.

BURNHAM, R. J.; GRAHAM, A. The history of neotropical vegetation: new developments and status. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 86, n. 2, p. 546-589, 1999.

CAETANO, S.; PRADO, D.; PENNINGTON, R. T.; BECK, S.; OLIVEIRA-FILHO, A.; SPICHIGER, R.; NACIRI, Y. The history of Seasonally Dry Tropical Forests in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology**, v. 17, n. 13, p. 3147-3159, 2008.

CARON, H.; DUMAS, S.; MARQUE, G.; MESSIER, C.; BANDOUE, E.; PETIT, R. J.; KREMER, A. Spatial and temporal distribution of chloroplast DNA polymorphism in a tropical tree species. **Molecular Ecology**, v. 9, n. 8, p. 1089-1098, 2000.

CAVERS, S.; NAVARRO, C.; LOWE, A. J. Chloroplast DNA phylogeography reveals colonization history of a Neotropical tree, *Cedrela odorata* L., in Mesoamerica. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 6, p. 1451-1460, 2003.

CHASE, M. W.; FAY, M. F.; DEVEY, D. S.; MAURIN, O.; RONSTED, N.; DAVIES, T. J.; PILLON, Y.; PETERSON, G.; SEBERG, O.; TAMURA, M. N.; ASMUSSEN, C. B.; HILU, K.; BORSCH, T.; DAVIS, J. I.; STEVENSON, D. W.; PIRES, J. C.; GIVNISH, T. J.; SYTSMA, K. J.; MCPHERSON, M. A.; GRAHAM, S. W.; RAI, H. S. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. **Aliso**, v. 22, p. 63-75, 2006.

COIFFARD, C.; GOMEZ, B. The rise to dominance of the angiosperm kingdom: dispersal, habitat widening and evolution during the Late Cretaceous of Europe. **Lethaia**, v. 43, n. 2, p. 164-169, 2010.

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. Evidences for multiple maternal lineages of *Caryocar brasiliense* populations in the Brazilian Cerrado based on the analysis of chloroplast DNA sequences and microsatellite haplotype variation. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 1, p. 105-115, 2003.

COLLEVATTI, R. G.; RABELO, S. G.; VIEIRA, R. F. Phylogeography and disjunct distribution in *Lychnophora ericoides* (Asteraceae), an endangered Cerrado shrub species. **Annals of Botany**, v. 104, n. 4, p. 655-664, 2009.

COLLEVATTI, R.; CASTRO, T.; LIMA, J.; TELLES, M. Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 5, p. 1024-1035, 2012.

CYMERYS, M.; FERNANDES, N. M. P.; RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C. Buriti: *Mauritia flexuosa* In: SHANLEY, P. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, p.1- 304, 2005.

DEMESURE, B.; SODZI, N.; PETIT, R. J. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. **Molecular Ecology**, v. 4, n. 1, p. 129-131, 1995.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 12, n. 1, p.1 3-15, 1987.

DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; LEWIS C. E. A New Phylogenetic Classification of the Palm Family, Arecaceae. **Kew Bulletin**, v. 60, n. 4, p. 559-569, 2005.

DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M.M.; LEWIS C. E. **Genera Palmarum. The Evolution and Classification of the Palms**. 2.ed. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 2008. 744p.

DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. BEAST: Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, n. 214, p. 1-7, 2007.

EDGAR, R. C.; Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792-179, 2004.

EITEN, G. Vegetação do Cerrado. *In*: PINTO, M. N. (Eds.) **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. Universidade de Brasília, Brasília, DF, p. 09-65, 1990.

ENNOS, R. A. Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. **Heredity**, v. 72, n. 35, p. 250-259, 1994.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 1, p. 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin version 3.1**: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis, Switzerland, 2006.

EYRE-WALKER, A.; GAUT, B. S. Correlated Rates of Synonymous Site Evolution Across Plant Genomes. **Society for Molecular and Evolution**. v. 14, n. 3, p. 455-460, 1997.

SARAH FEDERMAN, S.; HYSENI, C.; CLEMENT, W.; CACCONE, A. Isolation of 13 novel highly polymorphic microsatellite loci for the Amazonian Palm *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae). **Conservation Genetics Resource**, v. 4, n. 2, p. 355-357, 2011.

FELFILI, J. M.; RIBEIRO, J. F.; FILHO, H. C. B.; VALE, A. T. Potencial econômico da biodiversidade do Cerrado : estágio atual e possibilidades de manejo sustentável dos recursos da Flora. *In* **Cerrado Ecologia e Caracterização**. EMBRAPA Informação Tecnológica, DF, p.177-220, 2004.

FERRAZ-VICENTINI, K. R.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Palynological analysis of a palm swamp in Central Brazil. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 9, n. 3-4, p. 207-219, 1996.

FERREIRA, M. B. O Cerrado em Minas Gerais: Gradações e composição florística. **Informe Agropecuário**, v. 6, n. 61, p. 4-8, 1980.

FREELAND, J. Phylogeography. *In* FREELAND, J.; PETERSEN, S. D.; KIRK, H. **Molecular Ecology**. 2 ed. Wiley-Blackwell, 2005, cap. 5, p. 155-199.

FORSTER, P.; BANDELT, H. J.; RÖHL, A. **Network 4.6.1.0**. Software free available at www.fluxus-engineering.com. Fluxus Technology Ltda, 1999- 2012.

FU, Y. X.; LI, W. H. Maximum likelihood estimation of population parameters. **Genetics**, v. 134, n. 4, p. 1261-1270, 1993.

FU, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection. **Genetics**, v. 147, n. 2, p. 915-925, 1997.

GAUT, B. S.; MUSE, S. V.; CLARK, W. D.; CLEGG, M. T. Relative rates of nucleotide substitution at the *rbcl* locus of monocotyledonous plants. **Journal of Molecular Evolution**, v. 35, n. 4, p. 292-303, 1992.

GAUT, B. S.; MORTON, B. R.; MCCAIG, B. C.; CLEGG, M. T. Substitution rate comparisons between grasses and palms: Synonymous rate differences at the nuclear gene *Adh* parallel rate differences at the plastid gene *rbcL* orthology/nucleotide substitution rates/molecular clock). **Evolution**, v. 93, n. 19, p. 10274-10279, 1996.

GURGEL-GONÇALVES, R.; PALMA, A. R. T.; MOTTA, P. C.; BAR, M. E.; CUBA, C. A. C. Arthropods Associated with the Crown of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) Palm Trees in Three Different Environments from Brazilian Cerrado. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 302-312, 2006.

HAHN, W. J. A Molecular Phylogenetic Study of the Palmae (Arecaceae) Based on *atpB*, *rbcL*, and 18S nrDNA Sequences. **Systematic Biology**, v. 51, n. 1, p. 92-112, 2002.

HARLEY, M. M. A summary of fossil records for Arecaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 1, p. 39-67, 2006.

HARMS, E. K.; WRIGHT, S. J.; CALDERÓN, O.; HERNÁNDEZ, A.; HERRE, E. A. Pervasive density-dependent recruitment enhances seedling diversity in a tropical forest. **Nature**, v. 404, n. 6777, p. 493- 495, 2000.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4.ed. Artmed, 2010. 659p.

HENDERSON, A. **The Palms of the Amazon**. Oxford University Press, New York, 1995a. 388p.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **A Field Guide to the Palms of the Americas**. Princeton University Press, 1995b. 363p.

HEWITT, G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. **Nature**, v. 405, p. 907-913, 2000.

HEWITT, G. M. The structure of biodiversity – insights from molecular phylogeography. **Frontiers in Zoology**, v. 1, n. 4, p. 1-16, 2004.

HOORN, C.; GUERRERO, J.; SARMIENTO, G. A.; LORENTE, M. A. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. **Geology**, v. 23, n. 3, p. 237-240, 1995.

HOORN, C. Mangrove Forests and Marine Incursions in Neogene Amazonia (Lower Apaporis River, Colombia). **Palaios**, v. 21, n. 2, p. 197-209, 2006.

HUDSON, R. R. Gene genealogies and the coalescent process. **Oxford Surveys in Evolutionary Biology**, v. 7, p. 1-44, 1991

KINGMAN, J. F. C. On the Genealogy of Large Populations. **Journal of Applied Probability**, v. 19, n. 1982, p. 27-43, 1982.

KINGMAN, J. F. C. Origins of the Coalescent: 1974–1982. **Genetics**, v. 156, n. 4, p. 1461-1463, 2000.

KNOWLES, L. L.; MADDISON, W. P. Statistical phylogeography. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 12, p. 2623-2635, 2002.

KNOWLES, L. L. The burgeoning field of statistical phylogeography. **Journal Evolution Biology**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2004.

KNOWLES, L. L. Statistical Phylogeography. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, n. 28, p. 593-612, 2009.

KUHNER, M. K.; YARNATO, J.; FELSENSTEIN, J. Estimating effective population size and mutation rate from sequence data using Metropolis-Hastings sampling. **Genetics**, v. 140, n. 4, p. 1421-1430.

KUHNER, M. K. LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. **Bioinformatics**, v. 22, n. 6, p. 768-770, 2006.

LIMA, J. E. F. W.; SILVA, E. M. Hidrografia. In: BRASIL, SECRETARIA DE DESENVOLVIMENTO URBANO E MEIO AMBIENTE-SEDUMDA. **Águas Emendadas**. Brasília, p. 132-147, 2008.

LIBRADO, P. & ROZAS, J. **Dnasp: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data**, 2009.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Plantarum, Nova Odessa, SP, 1992. 352p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras Brasileiras e Exóticas cultivadas**. Instituto plantarum, Nova Odessa, SP, 2004. 416 p.

LORENZ-LEMKE, A. P.; MUSCHNER, V. C.; BONATTO, S. L.; CERVI, A. C.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. Phylogeographic inferences concerning evolution of brazilian *Passiflora actinia* and *P. elegans* (Passifloraceae) based on ITS (nrDNA) variation. **Annals of Botany**, v. 95, n. 5, p. 799-806, 2005.

MARTINS, R. C.; SANTELLI, P.; FILGUEIRAS, T. S. Buriti. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Eds). **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. EMBRAPA Informação e Tecnológica, Brasília, DF, p. 109-126, 2010.

MARTINS, R. C.; FILGUEIRAS, T. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Ethnobotany of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a Maroon Community in Central Brazil. **Economic Botany**, v. 20, n. 10, p. 1–8, 2011.

MULLER, J. Palynological Evidence on Early Differentiation of Angiosperms. **Biological Reviews**, v. 45, n. 3, p. 417-450, 1970.

NASCIMENTO, A. R. T.; SANTOS, A. A.; MARTINS, R. C.; DIAS, T. A. B. Comunidade de palmeiras no território indígena Krahô, Tocantins, Brasil: biodiversidade e aspectos etnobotânicos. **Interciência**, v. 34, n. 3, p. 182-188, 2009.

NASCIMENTO, A. R. T. Riqueza e etnobotânica de palmeiras no território indígena Krahô, Tocantins, Brasil. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 40, n. 1, p. 209-220, 2010.

NUNES, A. P.; SANTOS JÚNIOR, A. **Atualidades Ornitológicas** On-line, n. 162, p. 42-50, 2011.

NOVAES, R.; LAGE, M.; LEMOS-FILHO, J. P.; RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Phylogeography of *Plathymania reticulata* (Leguminosae) reveals patterns of recent range expansion towards northeastern Brazil and southern Cerrados in Eastern Tropical South America. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 5, p. 985-998, 2010.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 52, n. 2, p. 141-194, 1995.

OLSEN, K. M. Population history of *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) inferred from nuclear DNA sequences. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 5, p. 901-911, 2002.

PAULA-FERNANDES, N. M. Estratégias de Produção de Sementes e Estabelecimento de Plântulas de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) no Vale do Acre/Brasil. 2001. 207f. Tese (Doutorado)- FUA/Inpa, Manaus, 2001.

PORTO, M. F. A.; LAINA, R. L. Gestão de bacias hidrográficas. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 43-60, 2008.

POSADA, D. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, n. 7, p. 1253-1256, 2008.

POSADAS, P.; CRISCI, J. V.; KATINAS, L. Historical biogeography: A review of its basic concepts and critical issues. **Journal of Arid Environments**, v. 66, n. 3, p. 389-403, 2006.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND A. J. **Tracer v1.5**, disponível em <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>, 2007.

RAMOS, M. V. V.; CURI, N.; MOTTA, P. E. F.; VITORINO, A. C. T.; FERREIRA, M. M.; SILVA, M. L. N. Veredas do Triângulo Mineiro: Solos, Água e Uso. **Ciência agrotécnica**, v. 30, n. 2, p. 283-293, 2006.

RAMOS, A. C. S.; LEMOS-FILHO, J. P.; RIBEIRO, R. A.; SANTOS, F. R.; LOVATO, M. B. Phylogeography of the Tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the Influence of Quaternary Climate Changes in the Brazilian Cerrado. **Annals of Botany**, v. 100, n. 6, p. 1219-1228, 2007.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, n. 3, p.223-230, 1997.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. *In*: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds.) **Cerrado: ambiente e flora**. EMBRAPA-CPAC, Planaltina, DF, p. 89-166, 1998.

RICHARDS, C. L.; CARSTENS, B. C.; KNOWLES, L. L. Distribution modelling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypotheses. **Journal of Biogeography**, v. 34, n. 11, p. 1833-1845, 2007.

RIDLEY, M. **Evolução**. 3. ed. Artmed: Porto Alegre, 2006. 752p.

ROGERS, A. R.; HARPENDING, H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. **Molecular Biology Evolution**, v. 9, n. 3, p. 552-569, 1992.

RONQUIST, F. Dispersal-Vicariance Analysis: A new approach to the quantification of Historical Biogeography. **Systematic Biology**, v. 46, n. 1, p. 195-203, 1997.

RULL, V. Quaternary palaeoecology and ecological theory. **Orsis**, v. 5, n. 91, p. 91-111, 1991.

RULL, V. Late pleistocene and holocene climates of Venezuela. **Quaternary International**, v. 31, p. 85-94, 1996a.

RULL, V. Holocene vegetational succession on the Guaiquinima and Chimanttk massifs (SE-Venezuela). **Inter-ciencia**, v. 21, n. 1, p. 7-20, 1996b.

RULL, V. Biogeographical and evolutionary considerations of *Mauritia* (Arecaceae), based on palynological evidence. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 100, n. 1-2, p. 109-122, 1998.

RULL, V. A morphometric study of early Miocene *Mauritiidites* from Northern South America. **Grana**, v. 40, n. 3, p. 163-167, 2001.

SALGADO-LABOURIAU, M. L.; CASSETI, V.; FERRAZ-VICENTINI, K. R.; MARTIN, L.; SOUBIÈS, F.; SUGUIO, K.; TURCQ, B. Late Quaternary vegetational and climatic changes in Cerrado and palm swamp from Central Brazil. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 128, n. 1-4, p. 215-226, 1997.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. História Ecológica da Terra. 2Ed. Edgard Blücher LTDA, São Paulo, 307p. 1998.

SAMPAIO, M. B.; SCHMIDT, I. B.; FIGUEIREDO, I. B. Harvesting Effects and Population Ecology of the Buriti Palm (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) in the Jalapão Region, Central Brazil. **Economic Botany**, v. 62, n. 2, p. 171-181, 2008.

SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. Estimation of Past Demographic Parameters from the Distribution of Pairwise Differences When the Mutation Rates Vary Among Sites: Application to Human Mitochondrial DNA. **Genetics**, v. 152, n. 3, p. 1079-1089, 1999.

SHAW, J.; LICKY, E. B.; BECK, J. T.; FARMER, S. B.; WUSHENG LIU, MILLER, J.; SIRIPUN, K. C.; WINDER, C. T.; SCHILLING, E. E.; SMALL, R. L. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast dna sequences for phylogenetic analysis. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 1, p. 142-166, 2005.

SILVA-JÚNIOR, M. C.; FELFILI, J. M. **A vegetação da Estação Ecológica de Águas Emendadas**. Secretaria de Meio ambiente Ciência e Tecnologia do Distrito Federal, Brasília, DF, 1996. 43p.

SENE, F. M. Cada caso um caso... puro acaso. Sociedade brasileira de genética: Ribeirão Preto SP, 2009. 252p.

SOLTIS, D. S.; SOLTIS, P. S.; ENDRESS, P.K.; CHASE, M. W. **Phylogeny and Evolution of Angiosperms**. Sinauer: Washington, 2005. 370p.

STORTI, E. F. Biologia Floral de *Mauritia flexuosa* Lin. Fil, na região de Manaus, AM, Brasil, **Acta Amazonica**, v. 23, n. 4, p. 371-381, 1993.

TABERLET, P.; GIELLY, L.; PAUTOU, G.; BOUVET, J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, v. 17, n. 5, p. 1105-1109, 1991.

TAJIMA, F. Statistical method for testing neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.

TAVARÉ, S. Lines of descent and genealogical processes, and their application in population genetics models. **Theoretical Population Biology**, v. 26, n. 2, p. 119-164, 1984.

TEMPLETON, A. R. **Population Genetics and Microevolutionary Theory**. Wiley: Estados Unidos da América, 2006. 705p.

TUBELIS, D. P. Veredas and their use by birds in the Cerrado, South America: a review. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 363-371, 2009.

TRÉNEL, P.; HANSEN, M. M.; NORMAND, S.; BORCHSENIUS, F. Landscape genetics, historical isolation and cross-Andean gene flow in the wax palm, *Ceroxylon echinulatum* (Arecaceae). **Molecular Ecology**, v. 17, n. 15, p. 3528-3540, 2008.

VILLALOBOS, M.P. **Gilda de frugívoros associada com o Buriti (*Mauritia flexuosa*: *Palmae*) numa vereda do Brasil Central**. 122f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de Brasília, Brasília, Brasil, 1994.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, n. 8, p. 1358-1370, 1984.

WILSON, M. A.; GAUT, B.; CLEGG, M. T. Chloroplast DNA Evolves Slowly in the Palm Family (Arecaceae). **Molecular Biology and Evolution**, v. 7, n. 4, p. 303-314, 1990.

WHITE, T.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.J.J.; SNINSKY, J.J.; WITHE, T.J. PCR Protocols: A guide to methods and applications. New York, Academic Press, p. 315-322, 1990

YAMANE, K.; YANO, K.; AWAHARA, T. Pattern and Rate of Indel Evolution Inferred from Whole Chloroplast Intergenic Regions in Sugarcane, Maize and Rice. **DNA Research**, v. 13, n. 5, p. 197-204, 2006.

YAP, S. L. **Phylogeography and Demography of Common Plant Species from the Philippine Islands**, 2010. 154f. Tese de Doutorado em Filosofia (Ecologia e Biologia Evolutiva) - University of Michigan, EUA, 2010.

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.