

Mestrado Profissional
Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais

GLEICIANE CARREIRA SALVADOR

**GENÔMICA POPULACIONAL DE *MONOGEREION CARAJENSIS*
(ASTERACEAE), UMA PLANTA ENDÊMICA E AMEAÇADA DE
CARAJÁS, PARÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável do Programa de Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV-DS).

Orientador (a): Rodolfo Jaffé Ribbi, Dr.
Co-Orientador (a): Éder Cristian M. de Lanes, Dr.

Belém – PA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S182 Salvador, Gleiciane Carreira.

Genômica populacional de *Monogereion carajensis* (Asteraceae), uma planta endêmica e ameaçada de Carajás, Pará, Brasil. / Gleiciane Carreira Salvador – Belém: 2019.

33 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Instituto Tecnológico Vale, 2019
Orientador: Rodolfo Jaffé Ribbi, Dr.

1. Genética – Conservação – Carajás, Serra dos (PA). 2. Estrutura genética. 3. Genética – Diversidade - Conservação. 4. Biodiversidade – Impactos. I. Jaffé Ribbi, Rodolfo. II. Lanes, Éder Cristian Malta de. Título

CDD 23. ed. 581.35098115

Bibliotecária responsável: Nisa Gonçalves / CRB 2 - 525

GLEICIANE CARREIRA SALVADOR

**GENÔMICA POPULACIONAL DE *MONOGEREION CARAJENSIS*
(ASTERACEAE), UMA PLANTA ENDÊMICA E AMEAÇADA DE
CARAJÁS, PARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável do Programa de Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV-DS).

Data da aprovação:

Banca examinadora:

Dr. Rodolfo Jaffé Ribbi
Orientador - Instituto Tecnológico Vale (ITV)

Dr. Santelmo Selmo de Vasconcelos Junior
Membro interno - Instituto Tecnológico Vale (ITV)

Dr. Diego Assis das Graças

Membro externo – Universidade Federal do Pará (UFPA)
DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao bem mais precioso de minha vida: “MINHA FAMÍLIA”

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu refúgio, por estar presente em minha vida me sustentando em todos os momentos da minha vida;

Ao Instituto Tecnológico Vale – Desenvolvimento Sustentável (ITV-DS) pela oportunidade de ingressar no Programa de Mestrado Profissional em Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável, de fundamental importância para meu crescimento profissional.

À minha família por sempre está ao meu lado, em especial meu esposo Mário Nunes, que sempre acreditou em meu sonho e por ficar cuidando com carinho de nossos filhos. E mais que especial aos meus filhos Mayra, Guilherme e Murilo, compreendendo desde tão pequenos que devemos ir à luta pelos nossos ideais, e que a ausência foi para buscar o melhor para vocês. Obrigada por serem meu suporte, meu refúgio e meu impulso. Amo vocês!

Ao meu orientador Rodolfo Jaffé, pela excelente orientação e paciência, aceitou esse desafio em me orientar, durante todo o período mostrou-se uma pessoa atenciosa comigo e toda a minha família. Tenha certeza que seus ensinamentos contribuíram para o sucesso de minha carreira profissional. Meu muito obrigada!

Ao meu co-orientador Éder Lanes, pela orientação excelente e que com muita paciência me repassava palavras de apoio nos momentos mais aflitos durante os dois anos. Muito obrigada!

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de pesquisa.

A amiga que sempre me motivava com palavras de carinho e coragem Gilliana Rosa. Sua amizade é de grande valor para mim.

As novas amigas que o mestrado me deu: Amanda, Waléria e Jamille, pelos momentos de descontração, vocês sempre serviram de grande estímulo para mim.

Enfim, todas as pessoas que de alguma forma participaram de forma direta ou indiretamente desse processo de aprendizagem e crescimento, estarão sempre em meu coração. Muito obrigada!

RESUMO

Embora a mineração exerça um incontestável papel econômico nacional, existe ainda uma importante lacuna de conhecimento quanto ao impacto desta atividade sobre a dinâmica de populações de plantas endêmicas e ameaçadas de Carajás. O objetivo deste trabalho foi avaliar e caracterizar a estrutura genética populacional da espécie *Monogereion carajensis*. Esta planta anual e endêmica das Cangas da Serra dos Carajás é considerada criticamente em perigo pelos critérios da IUCN. Marcadores SNPs foram identificados e genotipados em indivíduos coletados ao longo da área de distribuição natural da espécie. Um total de 20.464 SNPs foram identificados, porém, após as filtrações apenas um subconjunto de 6.052 SNPs foram identificados como neutros e independentes, e posteriormente utilizados para avaliar diversidade e estrutura genética. Nossos resultados apontam ampla variabilidade genética, com a presença de dois clusters genéticos de *M. carajensis*. Com base nesse resultado, ressaltamos a importância de conservar parte da população da Serra Norte, a principal fonte de diversidade genética, bem como avaliar a diversidade genética adaptativa objetivando identificar áreas potenciais de relocação de indivíduos para aumentar a diversidade genética das áreas menos diversas do grupo genético II, e criar bancos de sementes da espécie.

Palavras-chave: Conservação. Diversidade genética. Estrutura genética. Mineração. SNPs. Asteraceae.

ABSTRACT

Although mining has an undeniable national economic role, there is still an important knowledge gap regarding the impact of this activity on the dynamics of endemic and endangered populations of plants of Carajás. The objective of this work was to evaluate and characterize the population genetic structure of the species *Monogereion carajensis*. This annual and endemic plant of Carajás Mineral Province Cangas is considered critically endangered by the IUCN criteria. SNPs markers were identified and genotyped in individuals collected along the natural range distribution of the species. A total of 20,464 SNPs were identified, however, after filtering, only a subset of 6,052 SNPs was identified as neutral and independent, and subsequently used to assess diversity and genetic structure. Our results indicate a wide genetic variability, with the presence of two genetic clusters of *M. carajensis*. Based on this result, we emphasize the importance of conserving part of the population of the Serra Norte, the main source of genetic diversity, as well as to evaluate adaptive genetic diversity in order to identify potential areas of reallocation of individuals to increase the genetic diversity of the less diverse areas of genetic group II, and to create seed banks of the species.

Keywords: Conservation. Genetic Diversity. Genetic Structure. Mining. SNPs. Asteraceae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	<i>Monogerion carajensis</i> . (A) Inflorescência da planta; (B) indivíduos em seu ambiente natural.....	12
Figura 2 -	Mapa da região de estudo indicando os pontos da amostragem de indivíduos da espécie <i>M. carajensis</i> , dentro da Província Mineral de Carajás mostrada no canto superior esquerdo.	20
Figura 3 -	Número ótimo de clusters genéticos (k) Entropia cruzada (LEA). B) Erros de validação cruzada (Admixture).	23
Figura 4 -	Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para 207 indivíduos de <i>M. carajensis</i>	24
Figura 5 -	Mapa de elevação mostrando a distribuição dos dois grupos genéticos de <i>M. carajensis</i> . Os gráficos de pizza representam os coeficientes de ancestralidade determinados usando o pacote LEA.	24
Tabela 1 -	Tabela 1: Medidas de diversidade genética de <i>M. carajensis</i> . Tamanhos das amostras (N) heterozigosidade esperada média (H_e), coeficiente médio de endogamia (F), diversidade média de nucleotídeo por local (π) e tamanho efetivo da população (N_e). Todas as estimativas tiveram o intervalo de confiança calculado 95% (IC).	25

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CR – Criticamente em Perigo

DS – Desenvolvimento Sustentável

H_e – Heterozigosidade esperada

H_o – Heterozigosidade observada

ITV – Instituto Tecnológico Vale

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza

N_e – Tamanho efetivo populacional

SNPs – Polimorfismo de nucleotídeos únicos

VCF - *Variant Call Format*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1	Conceitos de genética de populações	15
3.1.1	Diversidade genética	15
3.1.2	Estrutura genética	16
3.1.3	Fluxo genético	17
3.2	Família <i>Asteraceae</i>	17
3.3	Marcadores moleculares	18
4	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1	Área de estudo	19
4.2	Amostragem e pontos de coleta	19
4.3	Extração de DNA e quantificação	20
4.4	Sequenciamento NextRAD e descobertas dos SNPs	21
4.5	Diversidade genética e estrutura genética populacional	21
5	RESULTADOS	23
5.1	Estrutura populacional	23
5.2	Diversidade genética	25
6	DISCUSSÃO	25
7	CONCLUSÃO	27
8	RECOMENDAÇÕES	27
	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

A exploração de recursos naturais vem crescendo de forma intensiva nos últimos anos, devido principalmente às demandas da população humana e aos avanços tecnológicos, provocando uma rápida perda da biodiversidade nos diferentes ecossistemas do planeta (PRIMACK; RODRIGUES, 2001). A mineração é uma atividade indispensável para a sociedade, pois contribui para o bem estar humano pelo processamento mineral. No entanto, a utilização dos recursos naturais implica diretamente na manipulação de ambientes naturais da superfície terrestre. Esta provoca grandes modificações no meio, tendo um forte efeito perturbador na paisagem, pois promove a remoção da vegetação do solo e das rochas presentes acima dos depósitos minerais (GONÇALVES, 2012).

A Província Mineral de Carajás é um dos maiores depósitos minerais do mundo, o qual engloba a Floresta Nacional de Carajás (Flona Carajás) e o Parque Nacional dos Campos Ferruginosos. O termo “vegetação de canga” genericamente tem sido usado para denominar a vegetação que ocorre sobre depósitos ferruginosos, o qual tem altas concentrações de metais pesados no solo, escassez de substrato e nutrientes, deficiência de água na estação seca e elevadas temperaturas (RAYOL, 2006). As explorações nas minas de ferro em Carajás acontecem por meio do método a céu aberto, e em virtude disso, há supressão vegetal causando alterações à paisagem (MARTINS, 2014).

Atualmente, as Cangas de Carajás abrigam 12 espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (ZAPPI *et al.*, 2017). Dentre estas, a espécie *Monogerion carajensis* (Figura 1) pertence à família Asteraceae e considerada como “Criticamente em Perigo” (CR), de acordo com os critérios da IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza). Dentre os critérios que qualificam uma espécie “Criticamente em Perigo” destacam-se: i) a redução da área e extensão de ocorrência; e ii) diminuição da população, (MARTINELLI; MORAES, 2013). Essa planta é encontrada em um ambiente sob forte influência antrópica, fato este que significa uma possível ameaça à sua permanência na área. E, por esta razão, *M. carajensis* também foi incluída na lista de espécies ameaçadas da Portaria 443 (BRASIL, 2014).

A espécie completa seu ciclo vegetativo e reprodutivo no período máximo de um ano (espécie anual). O seu ciclo de vida passa por um período de crescimento vegetativo e, quando atinge o auge do seu estágio reprodutivo, a planta morre e suas sementes são responsáveis por iniciar uma nova geração. Um grande diferencial desse tipo de planta é que possuem geralmente sementes muito pequenas, mas que estão adaptadas a germinar e crescer mesmo em solos de baixa fertilidade (SILVA; ROSA; SALOMÃO, 1996). Justamente por ser uma planta anual, essa espécie pode ser considerada uma forte indicadora de impacto ambiental à região de Carajás, pois os efeitos das mudanças recentes no ambiente afetando a diversidade e estrutura genética são rapidamente perceptíveis em plantas de tempo de geração curto (BAZZAZ; MORSE, 1991).

Figura 1 - *Monogerion carajensis*. (A) Inflorescência da planta; (B) indivíduos em seu ambiente natural.



Fonte: Viana (2018).

Esta espécie é restrita às cangas da Serra dos Carajás, estando bem disseminada em toda a sua extensão, sendo encontrada em todos os plâtos da Serra Norte, Serra Sul, Serra Leste, Serra da Bocaina e Serra de São Félix. Dentre as fitofisionomias das cangas podemos encontrá-la em canga arbustiva, campos limpos, brejos e bordas de matas, com preferência a ambientes sombreados (CRUZ; VIANA; SANTOS, 2016). Portanto, a planta apresenta características que a qualificam como um bom modelo de estudo da genômica populacional.

Pesquisas voltadas para a genética de populações em plantas endêmicas e ameaçadas nas áreas de Cangas de Carajás podem ser importantes ferramentas para direcionar esforços de conservação.

No presente trabalho, estudamos a estrutura e diversidade genética das populações de *Monogereion carajensis*, para que essas informações contribuam com o direcionamento dos esforços de conservação da espécie.

2 OBJETIVOS

O objetivo do estudo é caracterizar os padrões de estrutura e diversidade genética de *Monogereion carajensis* ao longo da sua faixa de ocorrência natural.

Os objetivos específicos são:

- a) Caracterizar a estruturação genética das populações de *M. carajensis*;
- b) Mensurar a diversidade genética em cada população encontrada na sua área de ocorrência;
- c) Propor medidas de manejo e conservação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Conceitos de genética de populações

A genética de populações descreve e analisa a composição genética de populações e mudanças na variação genética que ocorrem devido a processos de mutação, seleção, fluxo gênico e deriva (BALKENHOL *et al.*, 2015). Mutação são alterações no material genético, seja pela exclusão, duplicação ou rearranjos de nucleotídeos na estrutura da molécula de DNA. Essas mutações podem gerar genes mutantes que determinem diferentes características aos organismos e gerar maior variabilidade genética em uma população (SNUSTAD; SIMMONS, 2012). Características hereditárias que conferem vantagens para a sobrevivência e reprodução do organismo tendem a permanecer na população, enquanto características desvantajosas tornam-se mais raras. Esse processo é chamado de seleção natural que gera a seleção dos organismos com características mais vantajosas no ambiente em que ele vive, modificando as frequências dos alelos em uma população (SNUSTAD; SIMMONS, 2012).

Os alelos podem se deslocar entre as populações por meio do fluxo gênico, que consiste no transporte dos alelos através de migração de indivíduos ou troca de gametas (HAMILTON, 2009). Já quando os alelos de uma população sofrem mudanças em sua frequência ao acaso, é dito que está ocorrendo deriva genética (FREELAND; PETERSEN; KIRK, 2011).

A genética de população descreve e analisa a variação genética dentro e entre populações a partir de frequências alélicas e genotípicas (SÁNCHEZ, 2008). A variação genética entre indivíduos ou populações é o que gera a diversidade genética (BALKENHOL *et al.*, 2015). O estudo de diversidade genética de uma espécie envolve basicamente duas ações: (i) quantificar os níveis de variabilidade dentro das populações e (ii) caracterizar o nível de estruturação genética entre populações. (HAMRICK, 1983).

3.1.1 Diversidade genética

O estudo da diversidade genética em populações permite conhecer os níveis de variabilidade genética mantida dentro das populações e como esta se encontra

dividida entre e dentro das mesmas (HAMRICK, 1983), sendo de fundamental importância por estar relacionado com a capacidade destas se adaptarem às alterações ambientais. Essa diversidade genética ocorre em três formas: (i) dentro de populações, (ii) entre populações e (iii) entre espécies.

A descrição da variabilidade genética dentro de populações se dá por medições de diversidade genética, sendo bastante relevantes as citadas a seguir: índices de diversidade, como por exemplo, riqueza alélica, heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) (NEI, 1973). O tamanho efetivo populacional (N_e), outro indicador de diversidade, é o tamanho de uma população idealizada que apresenta o mesmo valor de deriva genética na frequência alélica, ou a mesma diminuição de heterozigosidade que a população real, logo, este parâmetro permite a distinção entre o tamanho demográfico e o potencial evolutivo da população a longo prazo (VENCOVSKY; CROSSA, 2003). Já o índice de endogamia (F) ressalta a probabilidade de dois alelos serem idênticos por descendência em um loco específico de um determinado indivíduo, em outras palavras, relaciona-se com a dinâmica reprodutiva da população (SEBBENN *et al.*, 2000).

3.1.2 Estrutura genética

Entende-se como estrutura genética a distribuição da diversidade genética entre e dentro das populações, ou seja, é a maneira pela qual os alelos e genótipos encontram-se distribuídos entre os indivíduos, em populações ou em áreas, sendo resultado da ação e das interações de uma série de mecanismos evolutivos e ecológicos (LIMA, 2011; MARTINS, 1987). Brown (1978) enfatiza que a estrutura genética de uma espécie pode ser definida por três maneiras: (i) por medida de padrões de variação, na qual essas variações podem ser dadas pela variedade de genes entre e dentro das populações; (ii) a variação nos níveis de diversidade genética entre populações diferentes; (iii) e a dimensão e a distância genética existente entre as populações.

Diante do exposto, o desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética ocorrem devido a relações de conjunto de fatores evolutivos, a distribuição espacial dos genótipos, a deriva genética, seleção natural e mutação (GONÇALVES, 2012; NAZARENO, 2009).

3.1.3 Fluxo genético

De acordo com SLATKIN (1987) o fluxo genético é a mudança evolutiva na frequência dos alelos causada pelo movimento de gametas entre populações de uma mesma espécie. Em plantas, esse fluxo genético pode ocorrer via pólen (antes da fertilização) ou por dispersão de sementes (após a fertilização e desenvolvimento do embrião). Uma vez que a dispersão via pólen e sementes são eventos independentes, espécies de plantas com dispersão de pólen efetiva de longo alcance, porém, com dispersão de semente restrita, podem ter menor variação genética entre grupos locais, o que desencadeia a ocorrência de grupos de indivíduos aparentados (HAMRICK; NASON, 2000; MARTINS, 2005).

A dispersão de pólen (polinização) e de sementes entre populações reduz a diferenciação genética entre elas e pode introduzir variabilidade genética nova em populações receptoras (NASON *et al.*, 1997). Se duas populações trocarem genes numa taxa alta, a ponto do recrutamento de uma população ser dependente da outra, então, podem ser consideradas uma única população. Neste sentido, a dispersão influencia não apenas a estrutura genética, mas também os limites de cada população (BERTAGNA, 2004).

3.2 Família *Asteraceae*

Asteraceae (*Compositae*) é uma das maiores famílias de plantas, representando cerca de 10% das angiospermas, com cerca de 24.000 espécies em mais de 1.600 gêneros (FUNK *et al.* 2009). Sua distribuição é cosmopolita (SOUZA; LORENZI, 2012), sendo bastante comum em habitat de climas temperados, tropicais montanhosos, secos e abertos. No Brasil há a ocorrência de cerca de 260 gêneros e 2.000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2012).

A família é caracterizada por inflorescências do tipo capítulo considerados racemos condensados compostos por centenas ou milhares de flores, circundado por brácteas involucrais, anteras sinânteras, ovário ínfero, bicarpelar, unilocular, que se desenvolve em uma cipsela geralmente com pápus (FUNK *et al.* 2009). As espécies brasileiras são comumente encontradas em ambientes de formações abertas, principalmente no cerrado e campos rupestres, mas também existem

espécies em florestas densas, e algumas relativamente comuns em florestas secundárias (SOUZA; LORENZI, 2012).

Como se trata de uma família com muitas espécies, muitos estudos são voltados para taxonomia do grupo (BREMER *et al.*, 1992; TELES, 2008; MELO, PEREIRA, 2016) e levantamento de espécies (NAKAJIMA, SEMIR, 2001; ALMEIDA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2008; SOUZA, LOEUILLE, 2018). Estudos genéticos do grupo com maior destaque são em maioria voltados para a área filogenia (GOERTZEN *et al.*, 2015; PANERO, FUNK, 2008; PELSNER *et al.*, 2007) tendo a necessidade mais estudos com enfoque populacional, já que a família é muito diversa e presente em diferentes ambientes.

3.3 Marcadores moleculares

Dentre os diferentes tipos de marcadores moleculares, os marcadores de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), há algum tempo vem ganhando destaque. Este se refere à variação nucleotídica em um par de base (CAETANO, 2009; PRIMMER *et al.*, 2002). A maioria dos polimorfismos observados ocorre na forma bialélica, pois a probabilidade de alteração de duas bases independentes, presentes em uma mesma posição, é pequena (SANTORO, 2010). Partindo do pressuposto do conhecimento dos loci que são variáveis, os SNPs são utilizados para caracterizar geneticamente indivíduos e populações (FREELAND; PETERSEN; KIRK, 2011). Eles têm sido usados com diversas finalidades nas análises genéticas, como analisar genes de interesse para o melhoramento; estimar diversidade e estrutura genética de populações; fluxo gênico e taxas de cruzamento; na construção de mapas genéticos (BUSO *et al.*, 2003).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

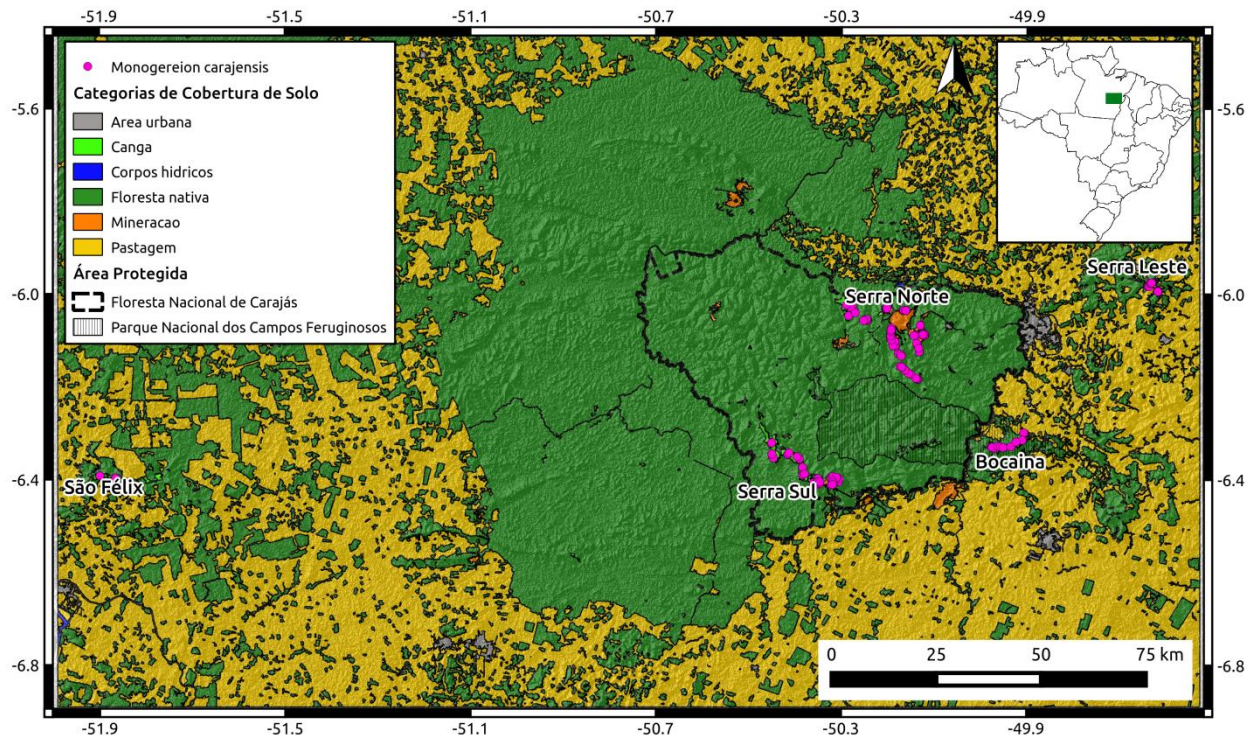
4.1 Área de estudo

A província Mineral de Carajás é constituída em partes pelos estados do Pará, Maranhão e Tocantins. Neste território, insere-se o complexo montanhoso Serra dos Carajás, com ocorrência de vários tipos de rochas, sob as coordenadas geográficas de 05°52' e 06°33' de latitude sul e 49°53' e 50°45' de longitude oeste (STCP, 2003), abrangendo os municípios de Parauapebas, Canaã dos Carajás e Água Azul do Norte (ESTUDO..., 2010).

4.2 Amostragem e pontos de coleta

Foram coletadas amostras de folhas frescas jovens pertencentes à espécie *M. carajensis* nas regiões da Serra Sul, Serra Norte, Bocaina, Serra Leste e São Félix do Xingu especificamente nos municípios de Parauapebas e Canaã dos Carajás (Figura 1). As amostras coletadas foram adicionadas em tubos Falcon de 15 mL com CTAB (2%) saturada em NaCl (descrito em ROGSTAD, 1992), e em seguida encaminhados para serem armazenados em freezer a -80 °C, com objetivo de evitar a degradação do DNA.

Figura 2 - Mapa da região de estudo indicando os pontos da amostragem de indivíduos da espécie *M. carajensis*. A localização, da Província Mineral de Carajás é mostrada no canto superior direito.



Fonte: Salvador (2019).

4.3 Extração de DNA e quantificação

O DNA genômico foi extraído no Laboratório Geral do Instituto Tecnológico Vale de Desenvolvimento Sustentável – ITVDS, em Belém, Pará (PA) utilizando o kit comercial (DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen, EUA) com algumas modificações. A extração do DNA genômico seguiu as seguintes etapas: 100 mg do material vegetal de folhas foram triturados com ajuda de pistilo, almofariz e nitrogênio líquido, em seguida foi colocado o material triturado no tubo *Eppendorf* de 2 ml; Posteriormente, adicionou-se 500 µL de Buffer AP1 (pré-aquecido a 65 °C) e 4 µL de RNase. Após a lise celular, as proteínas e polissacarídeos foram precipitados e removidos por centrifugação. Por meio de colunas QIAshredder, os restos celulares (contaminantes, proteínas e polissacarídeos) foram removidos. Na fase seguinte, o sobrenadante foi despejado numa mini coluna DNeasy (*spin column*) e o DNA foi eluído com tampão AE.

A quantificação do DNA extraído foi realizada por meio do kit “Qubit™ Assay. E a verificação da integridade da molécula de DNA foi feita utilizando geis de Agarose 1,2% com SYBR Safe DNA (Fabricante), em tampão TBE 1X (0,089M Tris, 0,089 M Ácido bórico e 0,008 M EDTA), em voltagem constante de 130 V. Como marcador de peso molecular, foi utilizado DNA ladder, 11 (SIGMA).

4.4 Sequenciamento NextRAD e descoberta de SNPs

As 207 amostras com pelo menos 150 ng de DNA total purificado, na concentração final de 5 ng/μL em 30 μL foram encaminhadas para a empresa SNPsaurus (<http://snpsaurus.com/>), nos Estados Unidos, para sequenciamento e processamento bioinformático. Por meio do método nextRAD (Nextera-fragmented, reductively amplified DNA) as amostras foram sequenciadas.

Na plataforma HiSeq 4000 as bibliotecas foram preparadas e sequenciadas (University of Oregon). Os reads restantes foram cortados usando (ferramentas BMap, <http://sourceforge.net/projects/bbmap/>). Inicialmente foi feita uma contagem da ocorrência de cada reads, filtrando as sequências repetidas e erros, em seguida os loci restantes foram alinhados entre si para identificar os alelos. Posteriormente, esses alelos foram selecionados e uma lista de referência de locos e de todas as reads foi obtida. Todas as leituras foram mapeadas para a referência com um limite de identidade de alinhamento de 90% usando bbmap (ferramentas BMap). O programa VCF (*Variant Call Format*) foi filtrado para retirar alelos com frequência inferior a 3%. Além deste, realizou-se também a remoção de locos com mais de dois alelos.

4.5 Diversidade genética e estrutura genética populacional

Antes da realização das análises de genética populacional, houve uma preocupação em assegurar a independência dos alelos e a qualidade dos SNPs gerados pelo sequenciamento. Para isso realizamos filtragens adicionais de modo a garantir a seleção de apenas SNPs neutros. Sendo assim, os conjuntos de dados foram executados por meio do pacote r2vcftools (<https://github.com/nspope/r2vcftools>) desenvolvido no programa R. Os critérios adotados foram os seguintes: qualidade (Phred score > 50), profundidade dos reads

(30–240), desequilíbrio de ligação (LD, $r^2 < 0,6$), e Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE, $p < 0.0001$). Para melhor satisfazer os pressupostos de populações em migração e seleção natural, os dados antes das filtrações por Hardy-Weinberg, foram agrupados e subdivididos de forma geograficamente por Serras: Serra Norte (SN), Serra Sul (SS), Serra Leste (SL), Serra da Bocaina (SB) e Serra do São Félix (SF). Posteriormente, loci que potencialmente estavam sob seleção foram detectados e removidos através de escaneamento do genoma com teste *F_{sT} outliers* (FRANÇOIS; DURAND, 2010). A estatística *F_{sT} outlier* foi calculada por meio da função sNMF do pacote “LEA” para estimar as frequências de ancestralidade alélica.

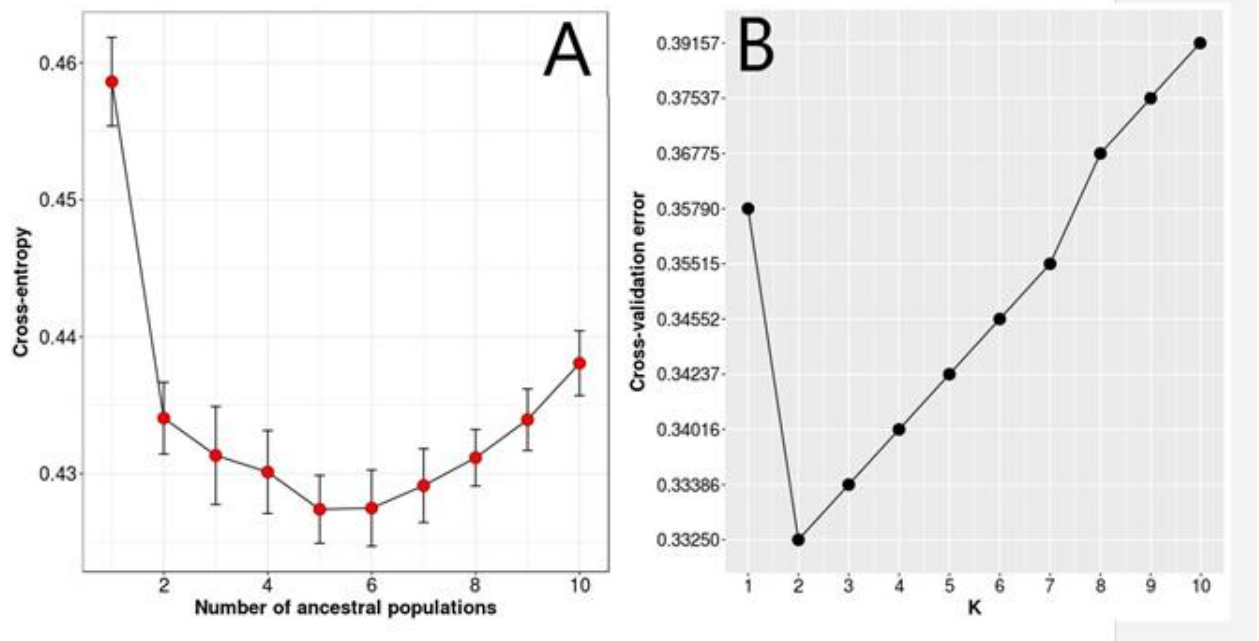
Três modelos de abordagem de clusterização foram empregados para avaliar a estrutura genética populacional (ALEXANDER, NOVEMBRE, LANGE, 2009; PRITCHARD *et al.*, 2000; FRANÇOIS; DURAND, 2010). A primeira abordagem foi realizada pela função “sNMF” implementada pelo pacote LEA no programa R (FRICHOT; FRANÇOIS, 2015). Para comparar os resultados com o pacote LEA, foram utilizadas duas outras abordagens de clusterização implementada pelo programa ADMIXTURE (ALEXANDER, NOVEMBRE, LANGE, 2009) e Análise Discriminante de Componentes Principais – DAPC por meio do pacote adegenet (JOMBARD; AHMED, 2011). Quanto aos parâmetros de diversidade genética populacionais, foram estimadas os seguintes índices: heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o) em equilíbrio de Hardy-Weinberg, diversidade nucleotídica (π : número médio de diferenças nucleotídicas por sítio entre duas sequências), e coeficiente de endogamia (F). Todas estas análises foram computadas no pacote “*r2vcftools*”. O tamanho efetivo populacional (N_e) foi estimado usando o método de desequilíbrio de ligação (LD) implementado pelo o programa NeEstimator 2.0.1 (DO *et al.*, 2014).

5 RESULTADOS

5.1 Estruturação populacional

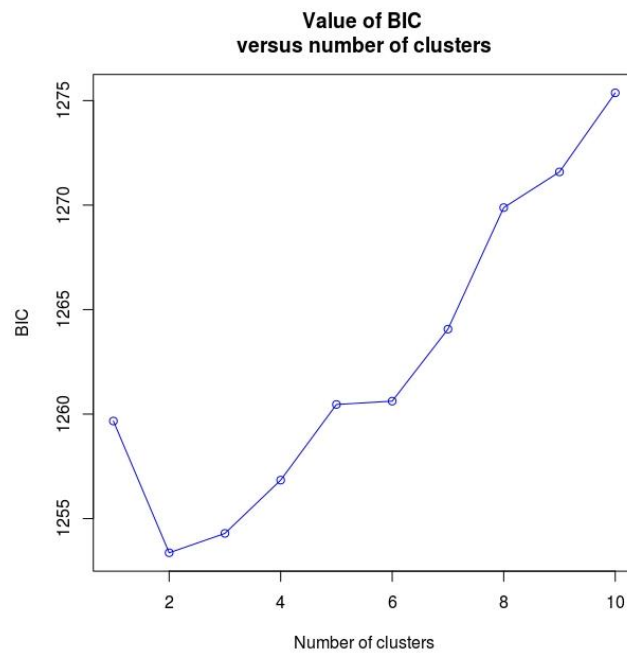
A partir do sequenciamento dos 207 indivíduos de *M. carajensis* foi identificado um total de 20,464 SNPs. Após as filtragens adicionais (por qualidade, profundidade, desequilíbrio de ligação, HWE e *FST outlier*) 6,052 SNPs foram empregados nas análises de estrutura e diversidade genética populacional. As análises de estrutura populacional indicaram a presença de dois grupos genéticos pelas diferentes abordagens populacionais (LEA, Admixture e DAPC, Figuras 1 e 2). Os indivíduos localizados na região da Serra Norte e Serra da Bocaina foram agrupados no cluster genético I, enquanto que indivíduos localizados na região de São Félix, Serra Sul e Serra da Bocaina foram agrupados no cluster genético II (Figura 3).

Figura 3 - Número ótimo de clusters genéticos (k) para *M. carajensis*. A) Entropia cruzada (LEA). B) Erros de validação cruzada (Admixture).



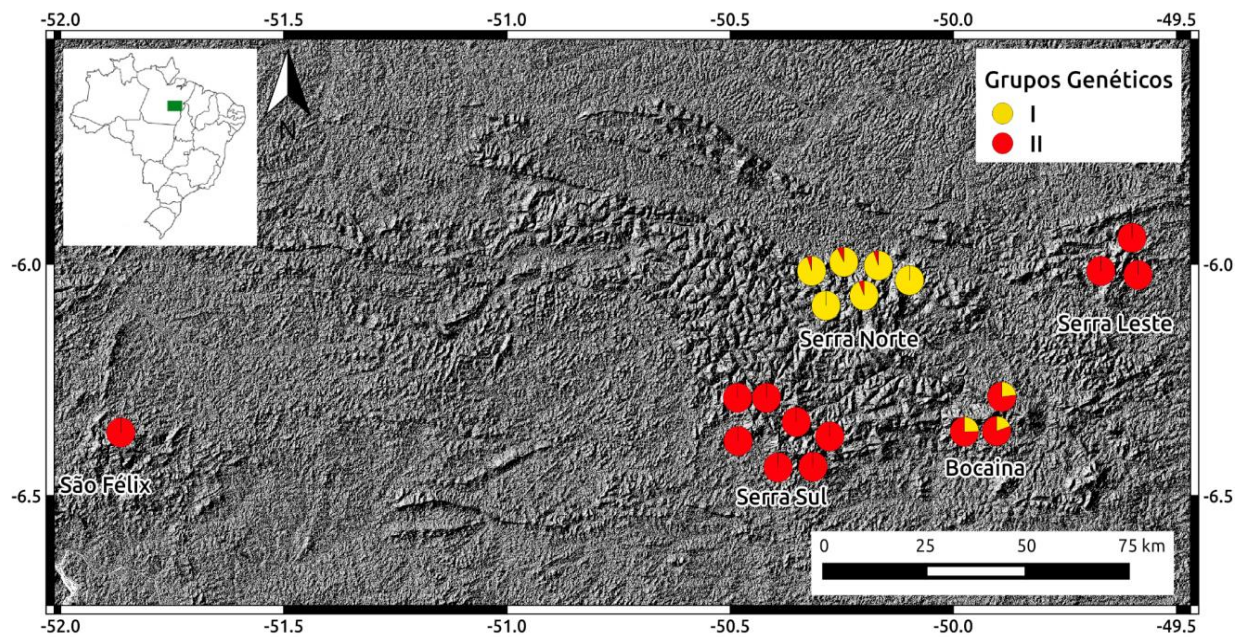
Fonte: Salvador (2019).

Figura 4 - Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para 207 indivíduos de *M. carajensis*.



Fonte: Salvador (2019).

Figura 5 - Mapa de elevação mostrando a distribuição dos dois grupos genéticos de *M. carajensis*. Os gráficos de pizza representam os coeficientes de ancestralidade determinados usando o pacote LEA.



Fonte: Salvador (2019).

5.2 Diversidade genética

Em relação às medidas de diversidade genética (Tabela 1), a heterozigotidade esperada (H_e), a diversidade média de nucleotídeo (π) e o tamanho efetivo da população (N_e) foram superiores no cluster genético I quando comparado com o cluster genético II. Os níveis de endogamia (F) foram baixos em ambos os clusters genéticos, porém significativo apenas para o cluster I.

Tabela 1 - Medidas de diversidade genética de *M. carajensis*. Tamanhos das amostras (N) heterozigotidade esperada média (H_e), coeficiente médio de endogamia (F), diversidade média de nucleotídeo por local (π) e tamanho efetivo da população (N_e). Todas as estimativas tiveram o intervalo de confiança calculado 95% (IC).

Species	Population	N	H_e (CI)	F (CI)	π (CI)	N_e (CI)
<i>M. carajensis</i>	Grupo genético I	116	0,18 (0,18/0,18)	-0,004 (-0,02/0,01)	0,17 (0,17/0,18)	802,50 (782,90/823,10)
	Grupo genético II	91	0,16 (0,16/0,16)	0,03 (0,003/0,06)	0,13 (0,13/0,13)	59,90 (59,60/60,30)

Fonte: Salvador (2019).

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, encontramos uma diversidade genética para a espécie *M. carajensis* similar à descrita por Lanes *et al.*, (2018) para a espécie ameaçada de extinção *Ipomoea cavalcantei*. As análises populacionais indicaram a presença de dois clusters na área de ocorrência de *M. carajensis*. Uma população está localizada na região da Serra Norte (cluster I) e a outra (cluster II) se estende da região da Serra Leste até São Felix. Os indivíduos da Serra da Bocaina sugerem certo grau de mistura entre as populações, onde 80% dos alelos presentes nesta Serra, pertence a Serra Sul.

Os valores de H_e (0,16/0,18) obtidos pelos SNPs do presente estudo estão próximos dos valores relatados para as espécies *Ipomoea maurandiodides* e *Ipomoea cavalcantei* (LANES, *et al.*, 2018). Porém, a H_e foi ligeiramente inferior aos relatados para a espécie *Brasilianthus carajensis* (0,20 – 0,22) uma outra planta endêmica dos campos ferruginosos de Carajás (SILVA, 2018).

O tamanho efetivo das populações (N_e) apresentou valores bem diferentes em ambas as populações, sendo de maior relevância no grupo genético I com 802,50.

Esta estimativa ultrapassa o valor mínimo de $N_e = 500$ sugerido para manter a longo prazo o potencial evolutivo da espécie (FRANKLIN; FRANKHAM, 1998; JAMIESON, ALLENDORF, 2012). O tamanho efetivo populacional do grupo genético II ($N_e = 59.90$) é próximo ao relatado na literatura para espécie *Brasilianthus carajensis* (SILVA, 2018), e muito inferior do que nas espécies de *Ipomoea cavalcantei* estudadas por Lanes *et al.* (2018). Se o tamanho de uma população é substancialmente reduzido, poderá ter como consequências genéticas fenômenos tais como depressão por endocruzamento e/ou diminuição da variabilidade, o que por sua vez poderá afetar seu potencial adaptativo (FRANKHAM; RALLS, 1998; SACCHERI *et al.*, 1998).

O índice de endogamia foi significativo apenas no grupo genético I, que possui uma distribuição bem mais restrita. A presença de endogamia nesta população pode ser explicada por sua menor faixa de ocorrência (HONNAY *et al.*, 2005). Assim, se a dispersão tanto via pólen quanto de sementes forem limitadas, ocorrerá endogamia, pois terá a auto-correlação adulto e posteriormente doador de pólen no próprio local, com isso aumenta a chance de ocorrência de cruzamento entre indivíduos aparentados. Além disso, a endogamia significativa pode indicar dispersão restrita de sementes, pois quanto menor a taxa de dispersão de sementes maior os valores de endogamia (KOBAYASHI; YAMAMURA 2000). No entanto, o grande tamanho populacional efetivo (N_e), não sugere que esta população esteja em risco de depressão endogâmica, (NEWMAN; PILSON, 2017), e indica níveis de endogamia naturais, decorrentes do sistema reprodutivo da espécie.

Um fato relevante é que os indivíduos localizados na Serra da Bocaina possuem uma mistura de alelos das duas populações existentes. Isso demonstra que naquela área existe uma zona de mistura entre as duas populações. Já a Serra de São Félix, em que mesmo sendo indivíduos isolados geograficamente pertencem ao Cluster II juntamente com Serra Sul, demonstra fluxo genético ao longo da área. Nossos resultados assemelham-se ao apresentado por SILVA (2018), que não encontrou populações isoladas em São Félix e Serra Sul para a espécie *Brasilianthus carajensis*, que assim como nossa planta em estudo é endêmica e anual de Carajás, porém difere dos nossos achados para a Serra Norte, onde uma única população geneticamente estruturada foi encontrada.

Não há informações precisas sobre a história natural da espécie, e não se conhece os tipos de polinização desta planta. No entanto, os aspectos morfológicos das flores e frutos indicam que ela pode ser polinizada por abelhas e frutos dispersados pelos ventos, como outras espécies de Asteraceae (KUBITZKI, 2007). Para SOONS *et al.* (2004), em paisagens abertas a velocidade vertical do vento é o principal fator de dispersão de propágulos a longa distância. A vegetação de Cangas na Floresta Nacional da Serra dos Carajás é caracterizada por ventos fortes (SKIRYCZ *et al.*, 2014), sendo este um fator para a propagação a longa distância de sementes e/ou pólen. Elas também poderiam ser transportadas de forma antrópica não intencional, quando se referir a longas distâncias. A distância não parece um fator determinante que impede a troca de alelos com as demais Serras.

7 CONCLUSÃO

Este é o primeiro conjunto de marcadores SNPs desenvolvidos para *Monogereion carajensis*, uma espécie de Asteraceae, endêmica e com ampla distribuição nas Cangas da região de Carajás.

Foi encontrado duas populações de *M. carajensis*, apresentado maior diversidade na Serra Norte. Na Serra da Bocaina há um certo grau de misturas de alelos das duas populações, sugerindo fluxo genético. A diversidade genética para esta espécie é similar as encontradas para as demais espécies endêmicas de Carajás.

Desta forma, uso marcador SNPs para este tipo de abordagem poderá ser utilizado para aumentar o conhecimento da diversidade genética de outras espécies de Asteraceae nativas ou endêmicas das Cargas, algumas delas ameaçadas de extinção.

8 RECOMENDAÇÕES

Com base nas informações obtidas a partir das informações genéticas e o tamanho efetivo populacional sugerido para garantir o potencial evolutivo de uma espécie ($N_e = 500$; ALLENDORF; LUIKART; AITKEN, 2012), chegamos às seguintes propostas para a proteção e conservação da *M. carajensis*: (i) conservar parte de indivíduos da Serra Norte, onde há uma taxa alta de diversidade genética,

(ii) Avaliar a diversidade genética adaptativa visando identificar áreas potenciais de realocação de indivíduos para aumentar a diversidade genética das áreas menos diversas do cluster II; (iii) Criar bancos de sementes das populações menores e menos diversas, visando à preservação de componentes genéticos.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D. H.; NOVENBRE, J.; LANGE, K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. **Genome Research**, v. 19, n. 9, p. 1655-1664, set. 2009. DOI [10.1101/gr.094052.109](https://doi.org/10.1101/gr.094052.109).
- ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G. H.; AITKEN, S. N. **Conservation and the genetics of population**. EUA: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-0-470-67146-7.
- ALMEIDA, A. M. D., et al. Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 5, n. 2, p. 27-43, 2005. ISSN 1806-129X. DOI [10.1590/S1676-06032005000300003](https://doi.org/10.1590/S1676-06032005000300003).
- BALKENHOL, N; CUSHMAN, S. A; STORFER, A. T.; WAITS, L. P. Landscape genetics: concepts, methods, applications. EUS: Wiley-Blackwell, 2015. ISBN 978-1-118-52529-6. 288 p.
- BAZZAZ, F. A.; MORSE S. R. Annual Plants: Potential Responses to Multiple Stresses. In: MOONEY, H. A., WINNER, W. E., PELL, E. J. (eds.). **Response of Plants to Multiple Stresses**. [S.l.]: Academic Press, 1991.
- BERTAGNA, Maína. O papel da dispersão de sementes na estruturação genética de populações fragmentadas de plantas. 2004. 17 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de Campinas, São Paulo, 2004.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria. No 443, de 17 de dezembro de 2014 A. n. 10, 2014.**
- BROWN, A. H. D. Isozymes, plant population genetics structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 52, n. 4, p. 145-157, 1978.
- BUSO, et al. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 7, p. 46-50, 2003.
- CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 64-71, 2009.
- CRUZ, A. P. O.; VIANA, P. L.; SANTOS, J. U. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Asteraceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5 (edição especial), p. 1211-1242, 2016.
- DO, C. et al. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. **Molecular Ecology Resources**, v. 14, n. 1, p. 209-214, 1 jan. 2014. DOI <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12157>
- ESTUDO de impacto ambiental | EIA: projeto Ferro Carajás S11D. [S.l.]: Golder Associates, 2010. Disponível em:

http://licenciamento.ibama.gov.br/Processo%20PNMA/EIA's%20CGTMO/COMOC/Projeto%20Ferro%20Carajas%20S11D/EIA_RIMA/Volume%20IV-A_texto/Volume%20IV-A_pdf%20completo%20sem%20figuras.pdf

FRANÇOIS, O; DURAND, E. Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 5, p. 773-784, 2010. DOI [10.1111/j.1755-0998.2010.02868.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02868.x)

FRANKHAM, R.; RALLS, K. Conservation biology: inbreeding leads to extinction. **Nature**, v. 392, n. 6675, p. 441, 1998.

FRANKLIN, I. R.; FRANKHAM, R. How large must populations be to retain evolutionary potential? **Animal Conservation**, v. 1, n. 1, p. 69-70, 1998.

FREELAND, J; PETERSEN, S. D; KIRK, H. **Molecular ecology**, 2nd edn. [S.l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2011.

FRICHOT, E.; FRANÇOIS, O. LEA: An R package for landscape and ecological association studies. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 8, p. 925–929, 2015.

FUNK, V. A. *et al.* Classification of Asteraceae. In **Systematics, Evolution and Biogeography of the IAPT**, Vienna, p. 171-189, 2009.

GOERTZEN, L. R., CANNONE, J. J., GUTELL, R. R.; JANSEN, R. K. Secondary structure derived from comparative analysis: implications for sequence alignment and phylogeny of the Asteraceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 29, n. 2, p. 216-234, 2003.

GONÇALVES, F. S. G. **Eficiência da recuperação ambiental de áreas antropizadas pela mineração de ferro do Complexo Carajás-PA**. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) - Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio Janeiro, Seropédica. 2012.

HAMILTON, M. B. **Population genetics**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2009.

HAMRICK, J. L. The distribution of Genetic Variation within and among Natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C. M.; CAHAMBERS, S. H.; MacBYDE, B.; THOMAS, L. Genetic and conservation. **Menlo Park**: California: Benjamin Cummings Publishing Company, p. 335-348, 1983.

HAMRICK, J. L.; NASON, John D. Gene flow in forest trees. In: Young, A.; Boshier, D.; Boyle, t. Forest conservation genetics: principles and practice. Collingwood: CSIRO Publishing. p. 81-98, 2000. (Capítulo 6)

HONNAY, O. *et al.* Forest fragmentation effects on patch occupancy and population viability of herbaceous plant species. **New Phytol**, v. 166, p. 723-736, 2005.

JAMIESON, I. G.; ALLENDORF, F. W. How does the 50/500 rule apply to MVPs. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 27, n. 10, p. 580-584, 2012.

JOMBARD, T.; AHMED, I. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 3070-3071, 2011.

KOBAYASHI Y, YAMAMURA N. Evolution of seed dormancy due to sib competition: Effect of dispersal and inbreeding. **J Theor Biol**, v. 202, p. 11-24, 2000.

KUBITZKI, K. The Families and Genera of Vascular Plants. Volume VIII: Flowering Plants. Eudicots. Asterales. 2007.

LANES, E. C. *et al.* **Addressing the Red List lapse**: Landscape genomic assessment of a narrowendemic and a widespread morning glory from Amazonian savannas. **Frontier in Plant Science**, v. 9, n. 532, maio, 2018. DOI <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2018.00532>.

LIMA, J. de S. **Diversidade genética e estrutura espacial intrapopulacional em *Tibouchina papyrus* (POHL) TOLEDO utilizando marcadores microssatélites**. 2011. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade Federal de Goiás, Goiás. 2011.

MANEJO e desenvolvimento. In.: PLANO de Manejo para uso múltiplo da Floresta Nacional de Carajás. Brasília, DF: IBAMA; MMA, 2003. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/flona_carajas.pdf.

MARTINS, F. D. **O Conflito de Carajás: Cenários para a conservação da savana metalófila**. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Biodiversidade em Unidades de Conservação) - Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2014.

MARTINS, K. **Diversidade genética e fluxo genico via polen e semente em populações de *Solanum lycocarpum* ST.HIL. (Solanaceae) no Sudeste de Goiás**. 2005. 128 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2005.

MARTINS, P. S. **Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”**. IPEF, n. 35, p. 71-78, abr. 1987.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: CNCFlora, 2013.

MELO, M. R. C. S. de; PEREIRA, R. de C. de A. Revisão histórica da tribo Vernonieae cass.(família Asteraceae) para o Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 11, p. 172-192, 2016.

NAKAJIMA, J. N.; SEMIR, J. The Asteraceae in the Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, n. 4, p. 471-478, 2001.

NAZARENO, A. G. **Estrutura e diversidade genética de populações naturais de *Ficus* spp. (Moraceae) em fragmentos florestais no Estado de São Paulo**. 2009. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

NEWMAN, D.; PILSON, D. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia pulchella*. **Evolution**, v. 51, p. 354-362, maio 1997. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1997.tb02422.x>.

PANERO, J. L.; FUNK, V. A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 47, n. 2, p. 757-782, 2008.

PELSER, P. B. *et al.* Anphylogeny of tribe Senecioneae (Asteraceae) and a new delimitation of Senecio L. *Taxon*, v. 56, n. 4, p. 1077-1077, 2007.

PRIMACK, R; RODRIGUES, E. *Biologia da Conservação*. Londrina: Planta, 2001. 327 p.

PRIMMER, C. R. *et al.* Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avian genome. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 3, p. 603-612, 2002.

PRITCHARD, J. K., STEPHENS, M.; ROSENBERG, N. A., DONNELL, P. Association mapping in structured populations. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 1, p. 170-181, 2000.

RAYOL, B. P. *Análise florística e estrutural da vegetação xerófila das savanas metalófitas na floresta de Carajás: Subsídios à conservação*. 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural da Amazônia; Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2006.

ROGSTAD, S. H. Saturated NaCl-CTAB Solution as a Means of Field Preservation of Leaves for DNA Analyses. **Taxon**, v. 41, p. 701-708, 1992. DOI [10.2307/1222395](https://doi.org/10.2307/1222395).

SACCHERI, I.; KUUSSAARI, M.; KANKARE, M.; VIKMAN, P.; FORTELIUS, W.; HANSKI, I. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. **Nature**, v. 392, n. 6675, p. 491, 1998.

SÁNCHEZ, C. F. B. **Diversidade entre e dentro de populações simuladas sob deriva genética**. 2008. 213 f. Dissertação (Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

SILVA, A. R. da. **Genômica de população de *Brasilianthus carajensis* (MELASTOMATACEAE) das Cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil**. 2018. 58 f. Dissertação (Mestrado em Botânica Tropical) - Universidade Federal Rural da Amazônia; Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2018.

SILVA, M. F. F.; ROSA, N. A.; SALOMÃO, R. P. Estudos botânicos na área do projeto Ferro Carajás: Aspectos florísticos da mata do aeroporto de Serra Norte-Pa. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica**, v. 2, n. 2, p. 169-187, 1996.

SKIRYCH, A. *et al.* Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in plant science**, v. 5, November, p. 653, 2014.

SLATKIN, M. Gene flow and geographic structure of nature populations. **Science**, v. 236, p. 787-792, 1987.

SLATKIN, M. Gene Flow in Natural Populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 16, n. 1, p. 393-430, 2003.

SNUSTAD, P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de Genética**. 6. ed. Rio de Janeiro: Gen-Guanabara Koogan, 2012.

SOONS, M. B.; HEIL, G. W.; NATHAN, R.; KATUL, G. G. Determinants of long-distance seed dispersal by wind in grasslands. **Ecology**, v. 85, n. 11, p. 3059-3068, 2004.

SOUZA, F. G. L. S. de; LOEUILLE, B. F. P. Levantamento de espécies de Asteraceae na Chapada do Araripe (Ceará, Pernambuco e Piauí). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 3, n. 1, 2018.

SOUZA, V. C. LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. 682 p.

Curitiba. low in fragmented, managed, and continuous population. Research paper nº 03. Santa Bárbara: Califórnia, NCEAS, 2003.

STCP, E. D. P. L. Plano De Manejo Da Floresta Nacional De Carajás: Volume I Diagnóstico. In: Ministério do Meio Ambiente - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Brasília, 2016.

TELES, A. M. **Contribuição ao estudo taxonômico da tribo Astereae no Brasil e Senecioneae (Asteraceae) no estado de Minas Gerais**. 2008. 202 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUBD-9ESHZY/tese_arist_nio_teles_vers_o_final.pdf?sequence=1.

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of representativeness used in genetic resources conservation and plant breeding. **Crop science**, v. 43, n. 6, p. 1912-1921, 2003.