

Capítulo 1

Conservação genética e sua importância

Karina Martins; Evert Thomas; Lucia Helena de Oliveira Wadt; Ronald Corvera Gomringer; Marília de Castro Rodrigues Pappas; Marcelino Carneiro Guedes; Patrícia da Costa.

Introdução

Considerando que a grande maioria da produção de castanhas-da-amazônia depende da coleta sob árvores nativas em florestas naturais, a conservação de castanhais saudáveis e produtivos é fundamental para o fornecimento continuado deste produto para o mercado nacional e internacional. Entretanto, a ocorrência de árvores produtivas em um dado tempo e lugar não implica, necessariamente, que a floresta está saudável ou que a produção de castanhas-da-amazônia será mantida ao longo do tempo.

A conservação dos castanhais é garantida quando os processos de reprodução (ou seja, produção de sementes viáveis) e regeneração (recrutamento de novos indivíduos) estão ocorrendo em quantidade e qualidade suficientes para garantir a manutenção, a longo prazo, dos castanhais. Uma maneira de diagnosticar o nível de conservação dos castanhais nativos é por meio da abordagem da genética molecular. O uso de marcadores moleculares, que são trechos do material genético com elevado nível de variação entre indivíduos, pode gerar informações sobre o estado de conservação genética de populações naturais. Em laboratório, extrai-se o material genético de pequenas amostras de tecido de folhas ou da entrecasca de árvores e utilizam-se métodos já consolidados para identificação destes marcadores moleculares. A partir desses, estimam-se diversos parâmetros genéticos que revelam o estado de conservação das populações, considerando tanto árvores adultas como regenerantes, além da qualidade genética das sementes produzidas.

Aspectos teóricos relacionados à conservação genética em populações naturais

A conservação de populações de espécies arbóreas depende primordialmente da existência de alta diversidade genética contida dentro das populações, ou seja, as árvores adultas devem ser geneticamente variáveis. Populações com um número grande de indivíduos – >1.000 árvores não aparentadas (Frankham et al., 2014) – em florestas contínuas (ou pouco fragmentadas) são as condições primordiais para que essas estejam geneticamente conservadas (Young et al., 1996). A fragmentação de florestas, devido ao desmatamento, ocasiona a redução de tamanhos populacionais efetivos e o aumento da distância entre árvores remanescentes, resultando em menor probabilidade de uma árvore receber pólen de outros indivíduos e em maior chance de receber pólen da própria árvore ou de árvore aparentada. Como consequência, a diminuição no número de árvores adultas implica redução na diversidade genética populacional (Figura 1) e, no caso da castanheira, diminuição na produção de sementes por causa da autoincompatibilidade genética da espécie, além de poder ocorrer a produção de sementes inviáveis. Se há menor diversidade genética na população adulta remanescente do que na população original, espera-se que os descendentes gerados também apresentem menor diversidade genética. Isso ocorre porque há menos adultos contribuindo com pólen e óvulos para a produção de sementes. Assim, além de menor diversidade genética, as sementes geradas nessas populações pequenas e fragmentadas apresentarão maiores níveis de consanguinidade e, provavelmente, menor viabilidade (Figura 2).

Como as castanheiras-da-amazônia reproduzem-se, predominantemente, por meio de cruzamentos (ou seja, realizam troca de pólen entre árvores), a consanguinidade pode ocasionar efeitos negativos nas populações, tais como: maior taxa de abortos de frutos imaturos, produção de menor quantidade de sementes viáveis, menores taxas de germinação das sementes e menor adaptação geral e crescimento de plântulas. Logo, ao longo de sucessivas gerações, a perda de diversidade genética e a ocorrência de cruzamentos consanguíneos poderão comprometer a sobrevivência e a regeneração de florestas, afetando a produção sustentável de sementes de qualidade.

Mesmo em florestas contínuas, a exploração madeireira ocasiona distúrbios após o manejo, de modo que até espécies não exploradas como a castanheira-da-amazônia podem ser impactadas, seja por injúrias nos indivíduos adultos, seja pela mortalidade de plântulas e varetas em consequência da operação florestal.

Por outro lado, o recrutamento de regenerantes de castanheiras-da-amazônia pode ser favorecido pela abertura de clareiras (Myers et al., 2000; Soriano et al., 2012; Porcher et al., 2018). Embora um trabalho tenha sugerido que a superexploração das sementes pode prejudicar a regeneração e, assim, comprometer a conservação da espécie, no longo prazo (Peres et al., 2003), diversos trabalhos mais recentes têm mostrado que essa relação não é verdadeira (Wadt et al., 2008; Ribeiro et al., 2014; Bertwell et al., 2018). Isso provavelmente ocorre porque há suficiente dispersão das sementes por roedores no intervalo de até dois meses entre o início da queda dos frutos e a coleta pelos extrativistas (Wadt et al., 2018), que geralmente é feita após a queda dos frutos.

Diante dos aspectos teóricos expostos, apresentaremos a seguir o estado da arte do conhecimento sobre diversidade genética e consanguinidade em populações adultas e regenerantes de castanheira-da-amazônia, com o intuito de discutir os riscos potenciais para as populações futuras.

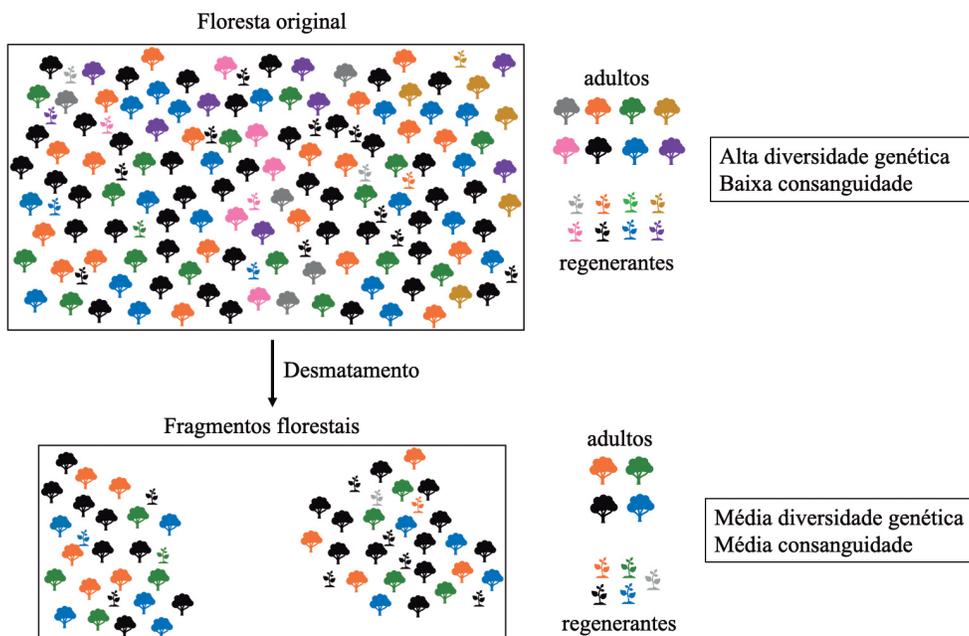


Figura 1. Representação da perda de diversidade genética resultante da fragmentação florestal. As diferentes cores representam variantes genéticas.

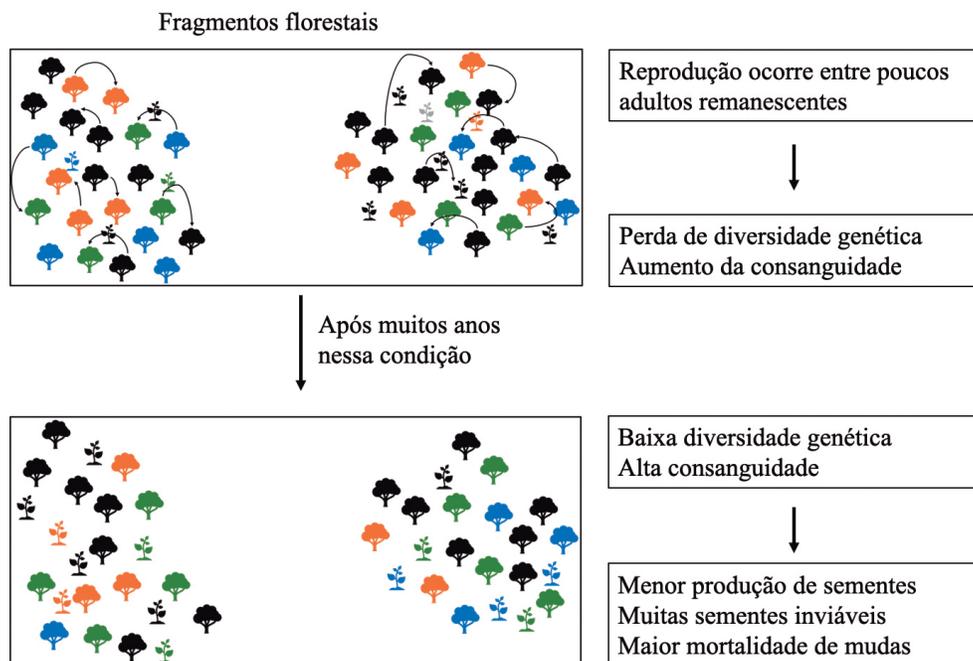


Figura 2. Aumento da consanguinidade e intensificação da diminuição de diversidade genética resultante da manutenção da condição fragmentada da população original.

A importância da manutenção da diversidade genética em castanhais nativos

Ao longo das últimas três décadas, alguns estudos utilizaram diferentes tipos de marcadores moleculares para quantificar a diversidade genética em populações naturais de castanha-da-amazônia. Como antes disso quase nada era conhecido a respeito da biologia reprodutiva de árvores tropicais, não havia expectativa de qual seria a magnitude da variação genética, nem mesmo do nível de consanguinidade em populações naturais da espécie. Acreditava-se, inclusive, que as árvores tropicais teriam menor diversidade genética e maiores valores de consanguinidade natural em comparação com as espécies que ocorrem em florestas temperadas. Essa suposição derivava-se do fato de que, devido à alta diversidade da floresta tropical, indivíduos de muitas espécies de árvores se encontravam distantes uns dos outros, o que, em princípio, reduziria as chances da polinização cruzada (Fedorov, 1966). No entanto, estudos sobre polinização e sistema reprodutivo

em árvores tropicais mostraram a eficácia dos polinizadores em vencer essas distâncias (Bawa, 1974, 1992). Assim, os dois primeiros trabalhos que buscaram quantificar a variabilidade genética de algumas poucas populações de árvores adultas de castanheira-da-amazônia (Buckley et al., 1988; Kanashiro et al., 1997) detectaram níveis de variabilidade genética compatíveis com o que já havia sido relatado para espécies de clima temperado.

Ambos os estudos compararam como a diversidade genética estava distribuída dentro e entre as populações e constataram que a maior parte da variação genética estava presente dentro de populações, ou seja, a diferenciação genética entre as populações estudadas foi muito pequena, o que significa que as populações estudadas foram similares geneticamente. Vale ressaltar, entretanto, que a quantidade de pontos de amostragem nesses dois trabalhos foi muito pequena em comparação à ampla área de ocorrência da espécie. Enquanto Buckley et al. (1988) estudaram apenas duas populações – uma situada no município de Careiro-AM e outra nas proximidades de Xapuri-AC –, separadas por cerca de 1.200 km, o trabalho de Kanashiro et al. (1997) incluiu quatro locais de coleta na região central do Pará (Alenquer, Altamira, Marabá e Santarém) e apenas uma coleta mais distante em Rio Branco-AC. Esperava-se que as populações mais próximas geograficamente fossem geneticamente mais semelhantes entre si do que essas em relação à população de Rio Branco, distante cerca de 2.100 km das populações do Pará. Entretanto, essa tendência não foi corroborada pelos dados, havendo a necessidade de estudos com maior amplitude geográfica, maior número de pontos de coleta e uso de marcadores moleculares mais informativos para que um padrão de estruturação genética pudesse ser compreendido.

Apenas em 2009 foi publicado um estudo, realizado no departamento de Madre de Dios, no Peru, que envolveu maior número de populações amostradas (sete) e marcadores mais informativos (Reátegui-Zirena et al., 2009). Pouco tempo depois, Sujii et al. (2015) publicaram um estudo que quantificou a diversidade genética e a consanguinidade em onze populações naturais de castanheiras-da-amazônia adultas, amostradas nos estados brasileiros do Acre, do Amazonas, do Amapá, do Pará e de Roraima. Ambos os trabalhos confirmaram os níveis moderados de diversidade genética já identificados nos trabalhos anteriores, e, além disso, mostraram que não há consanguinidade nessas populações. Resultados mais recentes, ainda não publicados e com amostragem mais ampla na Amazônia peruana – onze locais de coleta em Madre de Dios (Figura 3) – indicam maiores níveis de diversidade genética do que o revelado por Reátegui-Zirena et al. (2009).

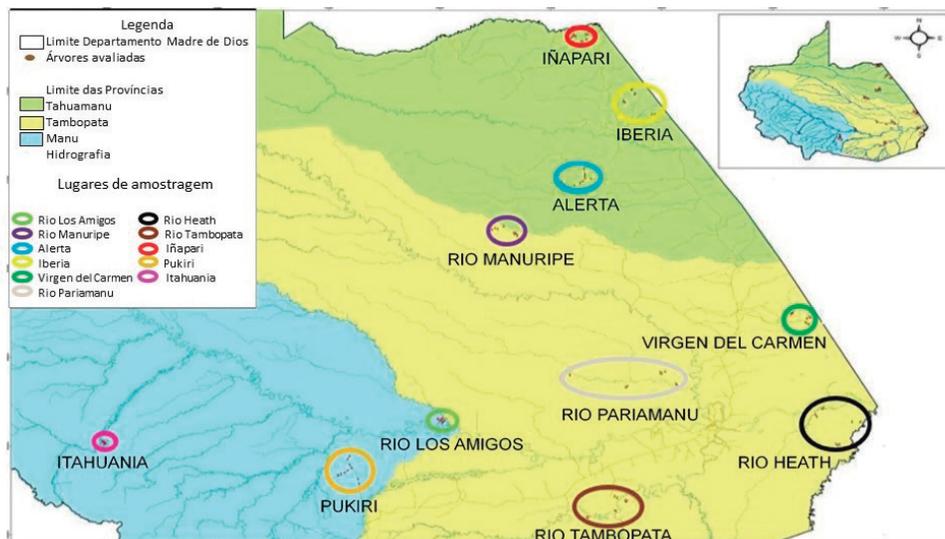


Figura 3. Mapa com onze localidades de amostragem de castanha-da-amazônia para estudos genéticos no departamento de Madre de Dios, na Amazônia peruana.

A diferenciação genética entre as onze populações estudadas no Peru também foi baixa. A maior parte da diversidade está localizada dentro das populações, e apenas as populações mais a nordeste (Iberia e Iñapari, Figura 3) parecem ter constituição genética diversa (Figura 4). Apesar da amostragem de maior número de populações e marcadores mais informativos, a abrangência geográfica do estudo ainda é pequena em comparação com a abrangência geográfica da espécie.

A amostragem geograficamente mais ampla de Sujii et al. (2015) permitiu, pela primeira vez, revelar uma diferenciação genética relativamente elevada entre as populações mais distantes (entre 10% e 25%), o que se contrapõe aos resultados dos primeiros estudos feitos com a espécie (Buckley et al., 1988; Kanashiro et al., 1997; Reátegui-Zirena et al., 2009). Mas, assim como em Kanashiro et al. (1997), o estudo de Sujii et al. (2015) revelou que a diferenciação genética entre populações não é explicada apenas pela distância geográfica, ou seja, não há um padrão forte de isolamento por distância. As populações mais próximas (dentro de cada estado) são muito semelhantes entre si, como se pode notar pelas pequenas distâncias genéticas entre elas no agrupamento baseado em distâncias genéticas (Figura 5). Para as populações separadas por distâncias geográficas maiores (entre os estados), o agrupamento não é tão consistente, uma vez que o suporte da maioria

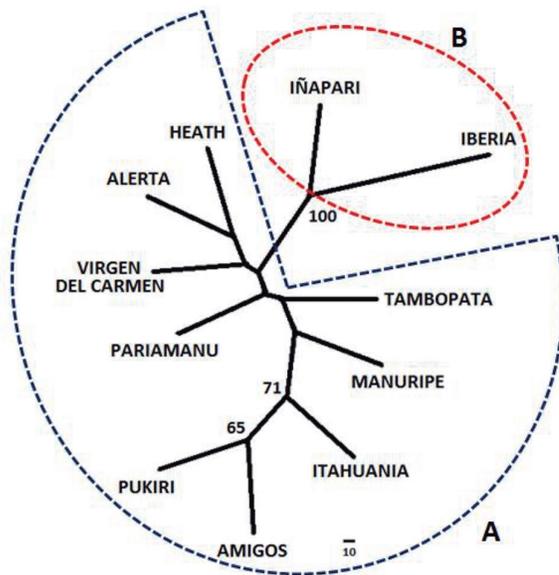


Figura 4. Representação gráfica da estrutura genética populacional da castanheira-da-amazônia em 11 localidades, em Madre de Dios, Peru, sendo os grupos A e B representantes de agrupamentos genéticos distintos. A localização geográfica de cada população está representada na Figura 3.

Fonte: elaborado pelos autores.

dos grupos formados é fraco (57% e 65,2%, Figura 5). Esses resultados revelam que, além da reprodução (cruzamentos e migração de pólen e sementes), outros fatores podem ter influenciado na estrutura genética em escala ampla (Sujii et al., 2015). Além disso, indicam a necessidade de ampliação na quantidade de pontos de amostragem, incluindo regiões da área de distribuição ainda não contempladas.

Um estudo recente quantificou a diversidade genética em quatro populações, situadas no estado do Mato Grosso, na região limite sul da área de ocorrência da espécie (Baldoni et al., 2020). Mesmo apresentando uma amplitude geográfica muito menor que a do trabalho de Sujii et al. (2015), os autores estimaram níveis de diferenciação genética tão elevados (>18%) quanto os estimados por Sujii e colaboradoras. Nosso grupo de pesquisa está conduzindo o mais amplo estudo de genética de populações naturais de castanheiras-da-amazônia já realizado. Estamos utilizando a abordagem genômica, em que, em vez de menos de uma dezena de marcadores moleculares, milhares de marcadores estão sendo utilizados, possibilitando resultados mais robustos. O estudo, ainda em andamento, apresenta

resultados de diversidade e estrutura genética em árvores amostradas em trinta locais, incluindo populações em todos os estados brasileiros onde a espécie ocorre (Figura 6).

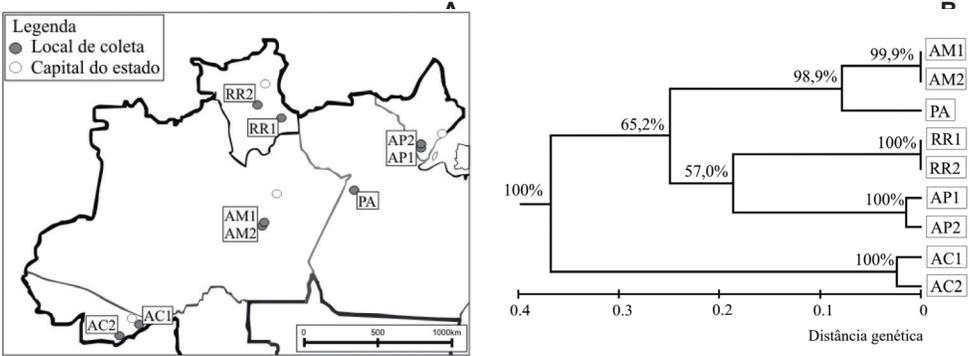


Figura 5. Mapa indicando os pontos de coleta de Sujii et al. (2015) em cinco estados brasileiros (A) e agrupamento das populações de acordo com uma medida de diferenciação genética (B). Populações próximas geograficamente são similares geneticamente, no entanto, a diferenciação genética entre as populações mais distantes geograficamente nem sempre é a maior.

Fonte: Adaptado de Sujii et al. (2015).

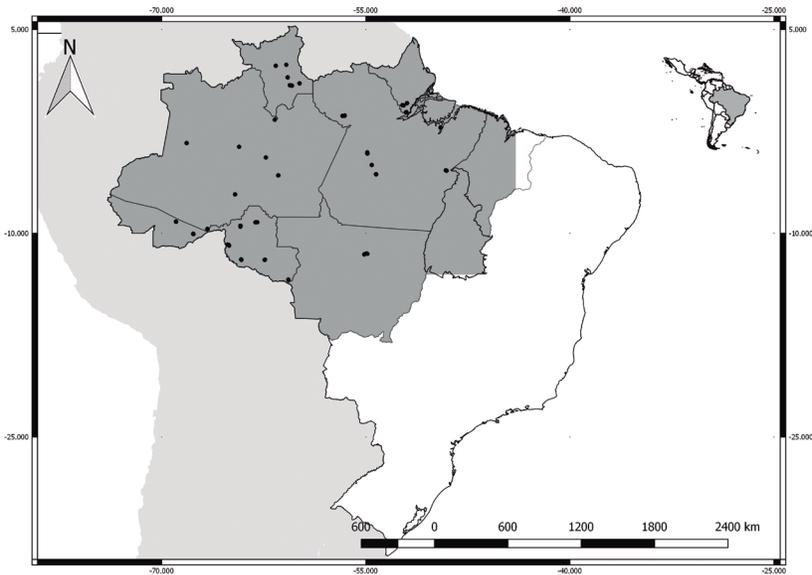


Figura 6. Localização dos trinta pontos de amostragem de árvores adultas de castanheira-da-amazônia para estudo da diversidade genômica em escala amazônica.

Os resultados indicam que as populações adultas apresentam diversidade genética entre si, mas há diferenças entre as regiões. As populações situadas mais ao extremo sul da área de ocorrência natural (populações no Mato Grosso e uma população no sul de Rondônia, Figura 6) e as populações do Amapá são menos diversas que as demais populações. Os maiores valores de diversidade genética intrapopulacional foram observados no norte de Rondônia e no município de Cametá-PA (ponto próximo à ilha de Marajó, Figura 6). A tendência de uma maior diversidade genética em populações naturais de castanheiras-da-amazônia nessas regiões já foi relatada em outro trabalho (Thomas et al., 2015) e está possivelmente associada à história demográfica das populações durante o período Pleistoceno. Modelos computacionais têm indicado que a área de ocorrência da espécie foi drasticamente reduzida durante a última glaciação, tendo persistido apenas algumas populações pequenas, denominadas de refúgios (Thomas et al., 2014). As populações mais diversas em Rondônia e em Cametá ocorrem justamente nas proximidades de alguns dos refúgios do Pleistoceno, propostos no modelo de distribuição (Thomas et al., 2014). Essas populações mais diversas podem constituir, portanto, repositórios de diversidade genética.

Os níveis de consanguinidade variaram mais entre as populações adultas estudadas que a diversidade genética, com destaque para a população do Mato Grosso, que, além de ser a menos diversa, foi a que apresentou o valor mais elevado de consanguinidade. Essa população também é aquela que, em média, mais se diferencia geneticamente das demais. A ampliação da abrangência geográfica da amostragem em nosso trabalho evidenciou que a diferenciação genética entre as populações é mais elevada do que a identificada nos estudos anteriores. Essa elevada diferenciação genética pode ser decorrente de uma limitação de migração de pólen e sementes entre as populações, especialmente por ser uma espécie de ocorrência pan-amazônica, com distribuição natural e antrópica. A seleção natural para adaptação local e a resultante também da domesticação incipiente contribuem para o aumento da diferenciação genética entre populações. A adaptação a ambientes específicos ocasiona o aumento na frequência de variantes genéticas diferentes em cada ambiente. Uma outra explicação, não excludente em relação aos outros dois processos, é que a diferenciação genética nessas populações adultas pode ser uma herança dos eventos demográficos de drástica contração e posterior expansão na área de ocorrência da espécie no final do período Pleistoceno. As próximas etapas deste estudo visam abordar esses processos com mais detalhes. Embora ainda com resultados parciais, nosso trabalho indica que, para uma espécie de ocorrência pan-amazônica como a castanheira-da-amazônia,

a ampla abrangência geográfica da amostragem incrementou significativamente o conhecimento sobre a diversidade e a estrutura genética de populações adultas.

Como a castanheira-da-amazônia é uma espécie que apresenta ciclo de vida muito longo, com árvores datadas com mais de quatrocentos anos (Brienen; Zuidema, 2005; Schöngart et al., 2015) e até mil anos (Vieira et al., 2005), podemos supor que a maioria dos trabalhos de diversidade genética e consanguinidade citados consideraram a amostragem de castanheiras-da-amazônia com mais de quinhentos anos. Os trabalhos estudaram populações adultas e, portanto, os parâmetros genéticos refletem processos históricos. Eventuais efeitos genéticos negativos decorrentes da superexploração de sementes ou da fragmentação florestal em populações adultas seriam aparentes apenas após muitas dezenas de anos nessas condições. Para observar esses efeitos genéticos negativos nas populações atuais, pode-se comparar a diversidade genética de árvores adultas com a diversidade em indivíduos regenerantes na mesma população. As plântulas, por exemplo, são provenientes de eventos reprodutivos mais recentes, logo a observação de uma menor diversidade genética e uma maior consanguinidade nas plântulas em comparação aos parentais pode, teoricamente, indicar um risco futuro para a conservação da espécie no longo prazo.

Apenas um estudo, realizado em duas populações no Acre, quantificou a diversidade genética em regenerantes naturais de castanheira-da-amazônia (Martins et al., 2018), tendo encontrado níveis semelhantes de diversidade genética em plântulas, árvores jovens e adultos e ausência de consanguinidade. Um outro estudo, realizado no Peru, comparou a diversidade genética de castanheiras-da-amazônia adultas e mudas geradas em viveiro a partir de sementes coletadas nas mesmas árvores das populações naturais (Chiriboga-Arroyo et al., 2020). Os autores encontraram níveis semelhantes de diversidade genética e maior consanguinidade nas mudas, independentemente do grau de degradação florestal das populações de origem. Esses dois estudos, entretanto, não podem ser comparados, uma vez que regenerantes em condições naturais (Martins et al., 2018) são provenientes de diferentes parentais e estão sob forte pressão de seleção, situação que não ocorre em viveiro. Adicionalmente, as plântulas do trabalho de Chiriboga-Arroyo et al. (2020) são naturalmente parentes pelo fato de serem provenientes de frutos selecionados de poucas árvores maternas. Logo, como discutiremos no próximo item, mesmo que cruzamentos consanguíneos ocorram, sementes e regenerantes endogâmicos devem ser rapidamente expurgados da população por meio da seleção natural. Uma evidência que reforça essa hipótese de forte pressão de

seleção é o gargalo demográfico observado na transição de plântulas para varetas (Porcher et al., 2018). Esse gargalo, inclusive, dificulta a amostragem de uma quantidade suficiente de plântulas e varetas para estudos robustos de diversidade genética e consanguinidade nesses grupos para avaliação dos potenciais efeitos genéticos da superexploração de recursos ou da fragmentação florestal.

Em suma, parece evidente que o estado de conservação genética de castanhais nativos difere substancialmente entre regiões, havendo a necessidade de uma atenção especial em algumas regiões onde a espécie parece ser mais vulnerável por apresentar menor diversidade genética e maior consanguinidade. Como comentado anteriormente, a consanguinidade elevada pode comprometer a produção de sementes viáveis e, por consequência, a manutenção dos castanhais. O modo predominante de reprodução e a eficiência da dispersão de genes via pólen e sementes são aspectos que determinam em grande parte os níveis de consanguinidade e são, portanto, relevantes para compreender os riscos potenciais das populações. A seguir apresentaremos o que se sabe sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen e sementes em castanhais nativos.

O perigo do aumento da consanguinidade em castanhais nativos

Sistema de reprodução refere-se ao modo predominante como os indivíduos combinam seus genes para formação dos descendentes. As árvores, em sua grande maioria, realizam a reprodução sexual e trocam pólen para a produção de sementes. Trabalhos que investigaram o sistema de reprodução mostram que a castanheira-da-amazônia se reproduz, predominantemente, por meio de cruzamentos (O'Malley et al., 1988; Wadt et al., 2015; Giustina et al., 2018), ou seja, a formação de sementes ocorre pela troca de pólen entre árvores geneticamente não aparentadas. Em um trabalho pioneiro, O'Malley et al. (1988) estimaram uma taxa de cruzamento de 85% em uma população no Acre. Trabalhos mais recentes, com uso de marcadores moleculares mais robustos, encontraram valores mais elevados. Enquanto Giustina et al. (2018) obtiveram 92% de taxa de cruzamento em uma população do Mato Grosso, no trabalho de Wadt et al. (2015), a taxa de cruzamento não diferiu de 100%. Uma vez que as estimativas de sistema de reprodução em castanheira-da-amazônia são obtidas a partir de sementes germinadas, a elevada taxa de cruzamento indica que eventos de autofecundação raramente resultam em sementes viáveis. Esses trabalhos mostraram também que os cruzamentos

entre árvores aparentadas raramente resultam em sementes viáveis (entre 4 e 8%); (O'Malley et al., 1988; Wadt et al., 2015). Um estudo realizado na Amazônia peruana indicou que castanheiras-da-amazônia muito próximas produzem menos frutos, provavelmente devido à consanguinidade biparental, que ocasiona o aborto de frutos endogâmicos, e à competição por recursos (Thomas et al., 2018). Alguns estudos revelaram a presença de estrutura genética espacial em castanhais nativos (Baldoni et al., 2017; Chiriboga-Arroyo et al., 2020), ou seja, árvores próximas têm chances maiores de serem parentes, provavelmente uma consequência das distâncias limitadas de dispersão de sementes por pequenos roedores. Esses resultados apontam para a importância da manutenção de castanhais nativos com quantidade razoável de castanheiras-da-amazônia adultas não aparentadas para garantir a formação de sementes de qualidade. Isso requer extensas áreas de florestas nativas ricas em castanheiras-da-amazônia, e com densidade mediana a baixa.

Outro aspecto importante do sucesso reprodutivo é a eficiência da troca de pólen dentro das populações, uma vez que a polinização em castanheira-da-amazônia é realizada por abelhas grandes. Uma análise detalhada dos padrões de fluxo de pólen dentro de duas populações, no Acre e no Mato Grosso, indicou que cruzamentos entre árvores vizinhas ocorre com maior frequência do que o fluxo de pólen em longa distância (Baldoni et al., 2017). Esse trabalho utilizou a análise de paternidade de sementes e plântulas obtidas em populações naturais para quantificar taxas de migração e distâncias de polinização e dispersão de sementes. Vale ressaltar, entretanto, que essa constatação de predomínio de distâncias curtas de polinização baseia-se nas sementes e plântulas dentro da área de estudo (de 75 ha) cuja paternidade foi confirmada. Na situação em que a maternidade das sementes era conhecida, a paternidade foi confirmada em 58,9% das amostras. Por consequência, para 41,1% das sementes, as distâncias de polinização foram maiores que a máxima detectada no trabalho, de pouco mais de 2 km (Baldoni et al., 2017), mostrando que distâncias longas de polinização não são raras, embora seja mais difícil detectá-las por essa metodologia. Martins et al. (2018) também utilizaram testes de paternidade para quantificar fluxo de pólen em uma população no Acre. As autoras observaram que a maioria dos eventos de fluxo gênico ocorreu a distâncias maiores que a área de estudo (de 25 ha), o que confirma a suposição de que é necessário conservar populações grandes em florestas extensas para manter níveis de troca de pólen suficientes para a produção de quantidade razoável de sementes viáveis. Outro aspecto revelado por estudos de sistema reprodutivo em populações de castanheira-da-amazônia é a diferença de sucesso

reprodutivo entre as árvores. Alguns adultos produzem uma quantidade maior de descendentes, o que pode revelar a ocorrência de cruzamentos preferenciais nas populações (Wadt et al., 2015; Baldoni et al., 2017; Chiriboga-Arroyo et al., 2020).

Além de trazer subsídios para a conservação e produção de sementes em populações naturais, o conhecimento do sistema de reprodução e dos padrões de fluxo de pólen dentro de populações também contribui para a definição de recomendações para plantios comerciais e para programas de melhoramento genético da castanheira-da-amazônia, com vistas à produção de frutos e sementes.

Silvicultura e melhoramento genético

De modo geral, os artigos citados nas seções anteriores indicam que, para a castanheira-da-amazônia, a presença de variabilidade genética em plantios comerciais será crucial tanto para a quantidade quanto para a qualidade da produção de sementes. Os plantios devem ser estabelecidos com uma combinação de árvores não aparentadas, de modo a simular os níveis de diversidade genética observados em castanhais nativos, para tentar garantir uma produção razoável de sementes. Plantios de enriquecimento em castanhais nativos devem também atentar para a origem das árvores que estão sendo plantadas. Deve-se, sempre, evitar que castanheiras-da-amazônia sejam plantadas próximas de outras geneticamente semelhantes, ou seja, deve-se evitar que a vizinhança reprodutiva seja composta por árvores aparentadas.

Uma vez que programas de melhoramento florestal visam, majoritariamente, à seleção e propagação de árvores superiores, a tendência destes programas é produzir plantios comerciais homogêneos quanto às características de interesse (como produção de madeira para uma destinação específica, por exemplo), o que necessariamente implicaria a baixa variabilidade genética dos plantios. No caso da castanheira-da-amazônia, as principais características selecionadas em um programa de melhoramento para a produção da castanha-da-amazônia, certamente, seriam quantidade e qualidade de sementes produzidas. O que os estudos de sistema de reprodução indicam é que ao menos a quantidade de sementes produzidas por uma árvore não dependerá apenas da sua superioridade genética, mas também da vizinhança reprodutiva dessa árvore em plantios. Espera-se, portanto, que programas de melhoramento recomendem para plantio uma variedade de árvores geneticamente superiores e reforcem para seus clientes a necessidade de estabelecer plantios, sejam puros, consorciados ou de

enriquecimento, com uma ampla variabilidade genética e que se evite, ao máximo, vizinhanças reprodutivas aparentadas. Torna-se relevante, também, avaliar a compatibilidade entre árvores selecionadas, uma vez que tem sido relatada a ocorrência de cruzamentos preferenciais.

Alguns estudos sobre ecologia de populações e monitoramento da produção de sementes em castanhais nativos buscaram identificar se, e como, fatores ambientais (edáficos e climáticos) influenciam a produção de frutos e sementes. Outros também avaliaram a relação entre crescimento em diâmetro da árvore e produção, tentando, indiretamente, identificar se há associação entre idade da árvore e produção de frutos. Contrariamente, ainda pouco se sabe sobre os fatores genéticos que influenciam a qualidade e quantidade de sementes produzidas. Já é consenso na literatura agronômica que produção de frutos é uma característica de herança quantitativa, o que significa que a produção de frutos é determinada tanto por fatores genéticos como por fatores ambientais. Sabe-se também que essa característica é determinada por uma grande quantidade de genes de pequeno efeito. Embora essa seja a expectativa geral, o conhecimento da base genética da produção de sementes em castanheira-da-amazônia é muito incipiente, sendo dificultado, em grande parte, pela natureza das pesquisas necessárias. Os experimentos clássicos necessitam do plantio de descendentes com maternidade conhecida em delineamento experimental e avaliação de seus desempenhos. Desse modo, consegue-se, por exemplo, avaliar quanto da variabilidade em produção de frutos é explicada pela variação genética entre árvores. No caso da castanheira-da-amazônia, que tem ciclo de vida longo, serão necessários anos e talvez até décadas para que experimentos desse tipo produzam dados consistentes. Logo, a instalação e a manutenção desses experimentos genéticos devem ser prioritárias para a castanheira-da-amazônia. Além de gerarem informações básicas sobre a herança genética da produção de frutos, sementes e outras características de herança quantitativa, esses plantios são um importante material para os programas de melhoramento genético e constituem repositórios de variabilidade genética, servindo como plantios de conservação *ex situ*. Atualmente, apenas a Embrapa e o Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP) possuem programas de melhoramento genético da castanheira-da-amazônia para a produção de frutos com essa finalidade (para mais detalhes, veja capítulo 4 do Volume IV).

Complementarmente à essa estratégia clássica em genética quantitativa, os estudos na área de genômica podem contribuir com informações interessantes sobre a base genética de diversas características da castanheira-da-amazônia. As

ferramentas genômicas ganharam muita popularidade em anos recentes, com a redução de custos e o desenvolvimento de novas tecnologias de sequenciamento de DNA.

Avanços da genômica

Nas seções anteriores, relatamos como marcadores moleculares em escala genômica têm contribuído para um avanço significativo no conhecimento da estrutura genética em populações naturais de castanheira-da-amazônia. A análise desses dados ainda é incipiente, mas a expectativa é que a associação entre esses milhares de marcadores genômicos com dados ambientais dos locais de coleta das amostras possibilitará explorar diversos aspectos relacionados à biologia evolutiva da castanheira-da-amazônia, tais como o estudo da seleção natural e sua influência na estrutura genética, bem como a identificação de genes e regiões genômicas associadas à adaptação local. Com esses resultados, será possível, por exemplo, identificar áreas prioritárias para conservação considerando tanto a situação de clima atual como diferentes cenários futuros de mudanças climáticas.

O desenvolvimento de recursos genômicos para a castanheira-da-amazônia, além de contribuir para estudos das bases genéticas da adaptação local e de características quantitativas, possibilitará a identificação de genes de importância econômica. Um recurso genômico valioso, por trazer subsídios para variadas pesquisas em genética da castanheira-da-amazônia, é a disponibilização pública de um genoma referência da espécie. Por definição, o genoma referência é uma representação completa da sequência de DNA de uma espécie, com a identificação de seus elementos e a anotação de suas funções. Identifica-se, por exemplo, regiões gênicas, de regulação gênica, sequências repetitivas não gênicas etc.

Para contribuir com a identificação de genes de importância econômica, a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), em parceria com a Embrapa e a Universidade de Brasília (UnB), e com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), montou o genoma referência da castanheira-da-amazônia. Foi sequenciado o DNA de uma árvore nativa de castanheira-da-amazônia situada em Porto Velho-RO, e, com uso de ferramentas computacionais, montou-se quase que completamente e com altíssima qualidade todo o genoma da espécie. Ainda, RNAs obtidos de diferentes tecidos de plântulas de castanheira-da-amazônia foram também sequenciados e utilizados para identificar os genes no genoma montado e buscar suas funções. O estudo

ainda está em desenvolvimento, mas já foi possível identificar uma expansão em famílias gênicas associadas à resistência a doenças e curiosidades a respeito do metabolismo associado ao selênio. A disponibilização pública do genoma referência da castanha-da-amazônia será um recurso fundamental para o avanço no conhecimento sobre a espécie, contribuindo para a conservação das populações e para o melhoramento genético.

Referências

- BALDONI, A. B.; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E.; TONINI, H.; TARDIN, F. D.; BOTIN, A. A.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; BOTELHO, S. de C. C.; LULU, J.; FARIAS NETO, L. de F.; AZEVEDO, V. C. R. Genetic diversity of Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) in southern Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, v. 458, p. 117795, Feb. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117795>.
- BALDONI, A. B.; WADT, L. H. O.; CAMPOS, T.; SILVA, V. S.; AZEVEDO, V. C. R.; MATA, L. R.; BOTIN, A. A.; MENDES, N. O.; TARDIN, F. D.; TONINI, H.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; SEBBENN, A. M. Contemporary pollen and seed dispersal in natural populations of *Bertholletia excelsa* (Bonpl.). **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, p. gmr16039756, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr16039756>.
- BAWA, K. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution**, v. 28, n. 1, p. 85-92, 1974. DOI: <https://doi.org/10.2307/2407241>.
- BAWAR, K. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. **Biotropica**, v. 24, n. 2, p. 250-255, June 1992. DOI: <https://doi.org/10.2307/2388519>.
- BERTWELL, T. D.; KAINER, K. A.; CROPPER JUNIOR, W. P.; STAUDHAMMER, C. L.; WADT, L. H. de O. Are Brazil nut populations threatened by fruit harvest? **Biotropica**, v. 50, n. 1, p. 50-59, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/btp.12505>.
- BRIENEN, R. J.; ZUIDEMA, P. A. Relating tree growth to rainfall in Bolivian rain forests: a test for six species using tree ring analysis. **Oecologia**, v. 146, p. 1-12, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0160-y>.
- BUCKLEY, D. P.; BUCKLEY, D. P.; PRANCE, G. T.; BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). 1. Genetic variation in natural populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 76, p. 923-928, Dec. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00273683>.
- CHIRIBOGA-ARROYO, F.; JANSEN, M.; BARDALES-LOZANO, R.; ISMAIL, S. A.; THOMAS, E.; GARCIA, M.; GONRINGER, R. C.; KETTLE, C. J. Genetic threats to the Forest Giants of the Amazon: habitat degradation effects on the socio-economically important Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa*). **Plants, People, Planet**, v. 3, p. 194-210, Sept. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/ppp3.10166>.
- FEDOROV, A. A. The structure of the tropical rainforest and speciation in the humid tropics. **Journal of Ecology**, v. 54, n. 1, p. 1-11, Mar. 1966. DOI: <https://doi.org/10.2307/2257656>.
- FRANKHAM, R.; BRADSHAW, C. J. A.; BROOK, B. W. Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. **Biological Conservation**, v. 170, p. 56-63, Feb. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.12.036>.

- GIUSTINA, L. D.; BALDONI, A. B.; TONINI, H.; AZEVEDO, V. C. R.; NEVES, L. G.; TARDIN, F. D.; SEBBENN, A. M. Hierarchical outcrossing among and within fruits in *Bertholletia excelsa* Bonpl. (Lecythidaceae) open-pollinated seeds. **Genetics and Molecular Research**, v. 17, n. 1, p. gmr16039872, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr16039872>.
- KANASHIRO, M.; HARRIS, S. A.; SIMONS, A. RAPD diversity in Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). **Silvae Genetica**, v. 46, n. 4, p. 219-223, 1997.
- MARTINS, K.; SANTOS, R. da S. O. dos; CAMPOS, T. de; WADT, L. H. de O. Pollen and seed dispersal of Brazil nut trees in the southwestern Brazilian Amazon. **Acta Amazonica**, v. 48, n. 3, p. 217-223, jul./set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392201800021>.
- MYERS, G. P.; NEWTON, A. C.; MELGAREJO, O. The influence of canopy gap size on natural regeneration of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) in Bolivia. **Forest Ecology and Management**, v. 127, n. 1-3, p. 119-128, Mar. 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00124-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00124-3).
- O'MALLEY, R. C.; BRUCKLEY, D. P.; PRANCE, G. T.; BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae) 2. Mating system. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 76, p. 929-932, Dec. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00273683>.
- PERES, C. A.; BAIDER, C.; ZUIDEMA, P. A.; WADT, L. H. O.; KAINER, K. A.; GOMES-SILVA, D. A. P.; SALOMÃO, R. P.; SIMÕES, L. L.; FRANCIOSI, E. R. N.; VALVERDE, F. C.; GRIBEL, R.; SHEPARD JUNIOR, G. H.; KANASHIRO, M.; COVENTRY, P.; YU, D. W.; WTIKINSON, A. R.; FRECKLETON, R.; P. Demographic threats to the sustainability of Brazil nut exploitation. **Science**, v. 302, n. 5653, p. 2112-2114, 2003. DOI: [10.1126/science.1091698](https://doi.org/10.1126/science.1091698).
- PORCHER, V.; THOMAS, E.; GOMRINGER, R. C.; LOZANO, R. B. Fire- and distance-dependent recruitment of the Brazil nut in the Peruvian Amazon. **Forest Ecology and Management**, v. 427, p. 52-59, Nov. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.05>.
- REÁTEGUI-ZIRENA, E.; RENINO, J. F.; CARVAJAL-VALLEJOS, F.; CORVERA-GOMRINGER, R.; CASTILLO-TORRES, D.; GARCIA-DÁVILA, C. R. Evaluación de la variabilidad genética de la castaña *Bertholletia excelsa* en la región de Madre de Dios (Perú), mediante marcadores microsatélites. **Folia Amazónica**, v. 18, n. 1-2, p. 41-50, 2009. DOI: <https://doi.org/10.24841/fa.v18i1-2.331>.
- RIBEIRO, M. B. N.; JEROZOLIMSKI, A.; ROBERT, P. de; MAGNUSSON, W. E. Brazil nut stock and harvesting at different spatial scales in southeastern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 319, p. 67-74, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.02.005>.
- SCHÖNGART, J.; GRIBEL, R.; FONSECA-JÚNIOR, S. F. da; HOUGAASEN, T. Age and growth patterns of Brazil nut trees (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) in Amazonia, Brazil. **Biotropica**, v. 47, p. 550-558, Sept. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/btp.12243>.
- SORIANO, M.; KAINER, K. A.; STAUDHAMMER, C. L.; SORIANO, E. Implementing multiple forest management in Brazil nut-rich community forests: Effects of logging on natural regeneration and forest disturbance. **Forest Ecology and Management**, v. 268, p. 92-102, Mar. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.05.010>.
- SUJII, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. de O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics**, v. 16, p. 955-964, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0714-4>.
- THOMAS, E.; ATKINSON, R.; KETTLE, C. Fine-scale processes shape ecosystem service provision by an Amazonian hyperdominant tree species. **Scientific Reports**, v. 8, Article number 11690, Aug. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29886-6>.

- THOMAS, E.; CAICEDO, C. A.; LOO, J.; KINDT, R. The distribution of the Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) through time: from range contraction in glacial refugia, over human-mediated expansion, to anthropogenic climate change. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, v. 9, n. 2, p. 267-291, maio/ago. 2014.
- THOMAS, E.; CAICEDO, C. A.; McMICHAEL, C. H.; CORVERA, R.; LOO, J. Uncovering spatial patterns in the natural and human history of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) across the Amazon Basin. **Journal of Biogeography**, v. 42, n. 8, p. 1367-1382, Aug. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbi.12540>.
- VIEIRA, S.; TRUMBORE, S.; CAMARGO, P. B.; MARTINELLI, L. A. Slow growth rates of Amazonian trees: consequences for carbon cycling. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v. 102, n. 51, p. 18502-18507, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0505966102>.
- WADT, L. H. de O.; FAUSTINO, C. L.; STAUDHAMMER, C. L.; KAINER, K. A.; EVANGELISTA, J. S. Primary and secondary dispersal of *Bertholletia excelsa*: Implications for sustainable harvests. **Forest Ecology and Management**, v. 415-416, p. 98-105, May 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.02.014>.
- WADT, L. H. de O.; BALDONI, A. B.; SILVA, V. S.; CAMPOS, T. de; MARTINS, K.; AZEVEDO, V. C. R.; MATA, L. R. da; BOTIN, A. A.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; TONINI, H.; SEBBENN, A. M. Mating system variation among populations, individuals and within and among fruits in *Bertholletia excelsa*. **Silvae Genetica**, v. 64, p. 248-259, Nov. 2015.
- WADT, L. H. O.; KAINER, K. A.; STAUDHAMMER, C. L.; SERRANO, R. O. P. Sustainable forest use in Brazilian extractive reserves: natural regeneration of Brazil nut in exploited populations. **Biological Conservation**, v. 141, n. 1, p. 332-346, Jan. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.10.007>.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 10, p. 413-418, Oct. 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10045-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10045-8).