



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

WALÉRIA PEREIRA MONTEIRO CORRÊA

**CONSERVAÇÃO DO JABORANDI (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex
Wardleworth) NO NORTE DO BRASIL: DIVERSIDADE GENÉTICA E
IMPACTOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS FUTURAS**

BELÉM-PA

2023

WALÉRIA PEREIRA MONTEIRO CORRÊA

**CONSERVAÇÃO DO JABORANDI (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth)
NO NORTE DO BRASIL: DIVERSIDADE GENÉTICA E IMPACTOS DAS
MUDANÇAS CLIMÁTICAS FUTURAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental e Museu Paraense Emílio Goeldi, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Clima e dinâmica socioambiental na Amazônia

Linha de pesquisa: Interação Clima, Sociedade e Ambiente

Orientador: Dr. Everaldo Barreiros de Souza

Coorientador: Dr. Cecílio Frois Caldeira Junior

BELÉM-PA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará

Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P436c Corrêa, Waléria Pereira Monteiro.
Conservação do Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex
Wardleworth) no Norte do Brasil: diversidade genética e impactos
das mudanças climáticas futuras / Waléria Pereira Monteiro
Corrêa. — 2023.
113 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Everaldo Barreiros de Souza
Coorientador(a): Prof. Dr. Cecílio Frois Caldeira Junior

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Geociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais,
Belém, 2023.

1. Conservação. 2. Diversidade. 3. Modelagem de distribuição
de espécies. 4. Mudanças climáticas. 5. Jaborandi. I. Título.

CDD 581.6309811

WALÉRIA PEREIRA MONTEIRO CORREA

**CONSERVAÇÃO DO JABORANDI (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth)
NO NORTE DO BRASIL: DIVERSIDADE GENÉTICA E IMPACTOS DAS
MUDANÇAS CLIMÁTICAS FUTURAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade Federal do Pará em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Amazônia Oriental e Museu Paraense Emilio Goeldi, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Clima e Dinâmica Socioambiental na Amazônia


Linha de pesquisa: Interação Clima, Sociedade e Ambiente

Aprovada em: 31/05/2023.

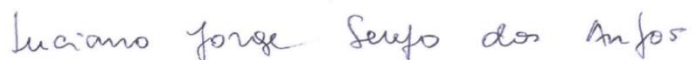
Banca Examinadora:




Prof. Everaldo Barreiros de Souza - Orientador
Doutor em Meteorologia
Universidade Federal do Pará



Prof. Claudio Moises Santos e Silva – Avaliador Interno
Doutor em Meteorologia
Universidade Federal do Rio Grande do Norte



Prof. Luciano Jorge Serejo dos Anjos - Avaliador Interno
Doutor em Ciências Ambientais
Universidade Federal Rural da Amazônia



Prof. Tereza Cristina Giannini - Avaliador Externo
Doutora em Ecologia
Instituto Tecnológico Vale



Prof. Vitor Hugo Freitas Gomes - Avaliador Externo
Doutor em Ciências Ambientais
Centro Universitário do Pará

*A minha mãe e ao meu pai (in memoriam), ao
meu esposo, meus irmãos e amigos mais
chegados que irmãos.*

AGRADECIMENTOS

Este doutorado foi um desafio do início ao fim, e eu nunca o teria concluído sem o apoio da minha família e amigos. Não tenho palavras para descrever o quanto sou grata ao meu Deus e a todos aqueles que de alguma forma estiveram presente nessa longa e árdua jornada.

Quero agradecer, primeiramente, ao meu Deus, por ter me dado força, paciência e fôlego de vida para que realizasse mais um sonho e concluísse mais uma etapa da minha vida. Agradeço também a minha família, em especial, a minha mãe Nely Monteiro, que acreditou desde o início que eu iria conseguir, sempre me dando palavras de incentivo e orando por mim todas noites. Externo a minha gratidão ao meu pai José Alves (*in memoriam*) que profetizou desde quando nasci que eu me tornaria uma Doutora e, ao meu esposo Adriel Corrêa pelo apoio e incentivo durante todos esses anos. Agradeço também aos meus irmãos - Jiselle Diniz, Fernanda Monteiro, Marcelo Monteiro, Alfredo Monteiro, Aldo Monteiro, e sobrinha(o)s, em especial a Nágila Monteiro por sempre corrigir os meus artigos e erros de inglês (rs). Eu amo todos vocês!

Quero imensamente agradecer ao meu orientador – Dr. Everaldo Barreiros que segurou na minha mão e me deu todo o apoio e cuidado para a conclusão desta tese, acreditou no que eu poderia fazer e me deu voto de confiança para que eu prosseguisse e não desistisse no meio do caminho. Agradeço também ao meu co-orientador Dr. Cecílio Caldeira, que desde o início dessa jornada, me abraçou e me deu todo o apoio e suporte para que eu trabalhasse de forma eficaz e com excelência. Também gostaria de agradecer ao professor Dr. Roberto Lisboa, por ter iniciado comigo nessa caminhada e, pelas suas essenciais contribuições para construção desse estudo. Deixo aqui o meu agradecimento ao pesquisador Dr. Leonardo Miranda, que apesar de estar em outro país, não mediu esforço para contribuir com seu enriquecedor conhecimento para essa tese. Gostaria também de agradecer ao professor e pesquisador Dr. Luciano dos Anjos, pelas suas valiosas contribuições nesse trabalho e, estendo a minha gratidão a professora Dra. Aline Meiguins por sempre está pronta a ajudar, tirar as dúvidas e por todos os feedbacks que me motivaram a seguir em frente. Da mesma forma, gostaria de agradecer a professora Dra. Júlia Cohen e a todos os funcionários do Programa de Ciências Ambientais por toda a ajuda na administração.

Agradeço à Universidade Federal do Pará (UFPA), ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA), ao Instituto Tecnológico Vale (ITV) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio e financiamento. Gostaria de agradecer aos colegas do Laboratório de Pesquisa ITV, Cinthia e Manoel. Agradeço também aos professores e pesquisadores Dr. Jeroymo Dallapicola, Dra. Carolina Carvalho, Dra. Jamille Veiga, Dr. Rodolfo Jaffé pelas suas valiosas contribuições nesse estudo. Minha gratidão a COEX-CARAJÁS pela coleta da semente e das folhas do jaborandi a qual foi de extrema valia para que esse trabalho fosse feito.

“O amigo ama em todos os momentos; é um irmão na adversidade” (Provérbios 17:17). Agradeço aos meus poucos, mas queridos, amigos de longa data e aos que fiz durante esta jornada. Obrigado por cada momento que desfrutamos juntos em algum momento da minha vida. Obrigado aos colegas do doutorado José Felipe, Simone Mendes, Thaianne, Nedilson Ferreira e, em especial a minha amiga Vânia Franco, a qual o doutorado me deu, que pegou na minha mão e nunca me deixou em pensar em desistir e, que mesmo nos momentos mais difíceis esteve sempre ao meu lado me apoiando e dizendo para eu continuar. Muito obrigada!! Não poderia deixar de agradecer a alguns amigos e colegas que são muito presentes na minha vida – Thayana Holanda, Gleyciane Ferreira, Jessica Freires, Willian e Daiane Canuto, Felipe e Luiza Marques, Danilo Guimarães, Yan Sena e Ciro dos Santos. Vocês são muito especiais, sou muito grata pelas suas ricas e valiosas amizades!

Dêem graças ao Senhor, porque ele é bom. O seu amor dura para sempre! (Salmos 136:1)

*“Mas, buscai primeiro o reino de Deus, e a sua
justiça, e todas estas coisas vos serão
acrescentadas”*

Mt. 6:33

RESUMO

O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth) é uma planta medicinal encontrada no norte/nordeste do Brasil. Nas últimas décadas, a exploração extrativista desordenada, o avanço da agropecuária e de outras atividades que resultam no desmatamento, bem como as mudanças climáticas em curso, tem induzido impactos diretos e indiretos na sobrevivência desta espécie vegetal. O jaborandi é uma fonte natural de *pilocarpina*, um alcalóide utilizado na indústria farmacêutica para o tratamento de glaucoma e xerostomia. Assim sendo, a espécie tem um grande interesse socioambiental pois o extrativismo das suas folhas tem gerado renda para inúmeras famílias, além de contribuir para a conservação da espécie na região. A fim de contribuir com estratégias de conservação e sobrevivência da espécie a longo prazo, esse estudo avaliou a estrutura e diversidade genética da espécie *P. microphyllus* em uma Unidade de Conservação (UC) no sudeste do Pará (FLONA Carajás), bem como foi desenvolvido um estudo de modelagem ambiental para analisar os impactos das mudanças climáticas na distribuição geográfica de ocorrência do jaborandi, a fim de delinear áreas adequadas mediante aos cenários climáticos futuros. Os resultados do estudo genético demonstraram a formação de 04 populações com elevada diversidade e estrutura ecológica, mesmo com extrativismo contínuo dentro da FLONA de Carajás, indicando que a exploração tem ocorrido de forma sustentável na região. No estudo de modelagem, as projeções indicaram impactos das mudanças climáticas na distribuição de *P. microphyllus* com redução nas áreas adequadas nos biomas de Cerrado e Caatinga (Maranhão e Piauí) e expansão das espécies nas áreas protegidas de cobertura florestal do bioma Amazônia no sudeste do estado do Pará. Os resultados deste estudo contribuem para o entendimento da diversidade na FLONA de Carajás e reforçam a necessidade de planos de manejo e conservação de *P. microphyllus* em áreas prioritárias, onde a espécie encontra condições climáticas favoráveis nos cenários futuros. Medidas de conservação *in situ* e *ex situ* para essa espécie são essenciais, visto que, o extrativismo das folhas contribui como fonte de renda para as comunidades locais.

Palavras-chave: conservação; diversidade; modelagem de distribuição de espécies; mudanças climáticas; Jaborandi; Amazônia.

ABSTRACT

Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth) is a medicinal plant found in the north/northeast of Brazil. In recent decades, disordered extractive exploitation, the advance of agriculture and other activities that result in deforestation, as well as ongoing climate changes, have induced direct and indirect impacts on the survival of this plant species. Jaborandi is a natural source of pilocarpine, an alkaloid used in the pharmaceutical industry to treat glaucoma and xerostomia. Therefore, the species is socio-environmental interest because the extractivism of its leaves has generated financial income for countless families, in addition to contributing to the conservation of the species in the region. In order to contribute to long-term conservation and survival strategies for the species, this study evaluated the structure and genetic diversity of the species *P. microphyllus* in a Conservation Unit (UC) in southeastern Pará (FLONA Carajás), as well as an environmental modeling study was developed to analyze the impacts of climate change on the geographic distribution of occurrence of jaborandi, in order to delineate suitable areas according to future climate scenarios. The results of the genetic study demonstrated the formation of 04 populations with high diversity and ecological structure, even with continuous extractivism within the Carajás FLONA, indicating that exploration has been taking place in a sustainable manner in the region. In the modeling study, the projections indicated impacts of climate change on the distribution of *P. microphyllus* with a reduction in suitable areas in the Cerrado and Caatinga biomes (Maranhão and Piauí) and expansion of the species in the protected areas of forest cover of the Amazon biome in southeastern Pará. The results of this study contribute to the understanding of diversity in the FLONA of Carajás and reinforce the need for management and conservation plans for *P. microphyllus* in priority areas, where the species finds favorable climatic conditions in future scenarios. *In situ* and *ex situ* conservation measures for this species are essential, since extracting the leaves contributes as a source of income for local communities.

Keyword: conservation; diversity; species distribution modeling; climate change; Jaborandi; Amazon.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.1 – *Pilocarpus microphyllus*. (a) *P. microphyllus* na fase de floração. (b) Flores.....9
- Figura 1.2 – Mapa de distribuição espacial de *Pilocarpus microphyllus*. (b) Os pontos em bege indicam os locais onde as plantas de *P. microphyllus* são encontradas no Brasil.....10
- Figura 1.3 – Percentagens de ocorrência das fenofases nos acessos de *Pilocarpus microphyllus*.....11
- Figura 1.4 – Média do número de dias da floração de *Pilocarpus microphyllus* e os valores de precipitação pluviométrica, durante o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018.....12
- Figura 1.5 – Atividade e intensidade de frutificação mensal, no período de fevereiro de 2014 a abril de 2016. As linhas sólidas representam máximo de precipitação e as linhas pontilhadas representam o mínimo da temperatura na região.....13
- Figura 1.6 – Estrutura das seis classes de VBE agrupadas por abordagens focadas nas espécies e nos ecossistemas.....14
- Quadro 1.1 – Objetivos de Metas e Estratégias que relatam a diversidade genética.....15
- Figura 1.7 – Quantidade produzida na extração de folhas do jaborandi (em toneladas), no Brasil, no período de 2009 a 2021. Círculo (em preto) marca o aumento na extração de folhas a partir do ano de 2018.....18
- Figura 1.8 - Processo de coleta das folhas do Jaborandi na FLONA de Carajás-PA.....20
- Figura 1.9 – Principais ODS relacionadas ao modelo de produção de coleta das folhas do jaborandi na FLONA de Carajás-PA.....21

Figura 1.10 - A temperatura média global aumentou 1,1 graus em comparação aos níveis pré-industriais, sendo que a grande maioria desse aumento foi provocada pela atividade humana. Segundo todos os cenários estudados, espera-se que um aquecimento de 1,5 graus seja alcançado por volta do início da década de 2030.....	22
Figura 1.11 – Crescimento e tendência no número de espécies ameaçadas em todo mundo, nas duas últimas décadas.....	23
Figura 1.12 – Os possíveis efeitos negativos das variáveis bioclimáticas sobre as plantas. No lado direito da imagem são listados diferentes fatores que afetam o crescimento e o desenvolvimento das espécies vegetais.....	25
Figura 1.13 – Fluxograma que sintetiza a interdisciplinaridade da Tese.....	27
Quadro 1.2 – Hipóteses e projeções testadas nesta pesquisa.....	28
Figura 1.14 - Estrutura que sintetiza a tese.....	30
Figura 1.15 – Organograma da metodologia que foi utilizada na tese.....	30
Figura 2.1 - Mapa da região de estudo mostrando a localização das amostras coletadas de <i>Pilocarpus microphyllus</i> . Os pontos pretos são as 21 áreas coletadas para amostragem a partir do estudo da diversidade genética natural do jaborandi. As linhas tracejadas pretas representam a Floresta Nacional de Carajás (FLONA Carajás) e as linhas contínuas pretas o Parque Nacional dos Campos Ferruginosos (PNCF). As coordenadas são apresentadas em graus decimais.....	37
Figura 2.2 - Número ideal de agrupamentos genéticos (K) para <i>Pilocarpus microphyllus</i> com base na (a) entropia cruzada (LEA), (b) erros de validação cruzada (TESS3) e, (c) valor BIC (DAPC).....	42

Figura 2.3 – **(a)** Mapa da região de estudo mostrando a localização das amostras coletadas de *Pilocarpus microphyllus*. Os pontos numerados representam os 21 agregados naturais onde foram amostrados indivíduos de jaborandi. As linhas tracejadas pretas representam a Floresta Nacional de Carajás e as linhas contínuas pretas o PARNA dos Campos Ferruginosos. As cores dos pontos correspondem aos quatro grupos genéticos (A, B, C e D) identificados pelas análises snmf. As coordenadas são apresentadas em graus decimais. **(b)** Coeficientes de ancestralidade obtidos da função *snmf* do pacote R “LEA”. Os indivíduos são representados em cada coluna e as linhas pretas os separam em 21 agregados (Mapa de uso da terra para o ano de 2018.....43

Figura 2.4 – Análise de Componentes Principais (PCA) para os 277 indivíduos de *Pilocarpus microphyllus* com o conjunto de 5.268 SNPs indicando a formação de quatro *clusters*.....44

Figura 2.5 - Simulação populacional dos quatro clusters genéticos de *Pilocarpus microphyllus* na Floresta Nacional de Carajás, mostrando que a atual diversidade genética real estimada (H_E) é capturada por 20 indivíduos amostrados do Cluster A (**A**), 30 indivíduos do Cluster B (**B**), 35 do Cluster C (**C**), 40 do Cluster D (**D**) ou 50 de todas as amostras (**E**). Os pontos representam as médias de 100 replicações de bootstrap para cada tamanho de amostra e as barras de erro mostram os intervalos de confiança de 95%.....61

Figura 3.1 - Mapas com os pontos de ocorrência da espécie *P. microphyllus* (círculos) sobre: **(a)** América do Sul enfatizando o domínio geográfico dos três Biomas tropicais sobre o Brasil; **(b)** área de estudo do presente trabalho no norte/nordeste do Brasil com o mapa de cobertura/uso do solo no ano de 2020.....62

Figura 3.2- Distribuição potencial de habitats adequados para *P. microphyllus* espécies (áreas sombreadas de verde a roxo) no norte/nordeste do Brasil entre os biomas Amazônia, Cerrado e Caatinga considerando: **(a)** correnteza; **(b)** projeções para um futuro próximo em cada um dos três GCMs e cenários SSP2-4.5 e SSP5-8.5. Polígonos em linhas tracejadas cinza em **(a)** indicam as áreas-chave de ocorrência da espécie.....68

Figura 3.3 - (a) Distribuição potencial em um futuro próximo (2020 a 2040) de habitats adequados para *P. microphyllus* espécie (áreas sombreadas de verde a roxo) considerando o conjunto de todos os GCMs e cenários; (b) Boxplots da distribuição nas quatro áreas-chave considerando as estatísticas para projeções atuais e futuras.....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Extração de folhas de jaborandi em toneladas (ton.) e em porcentagens (%) no Brasil (BR) e nos estados do Maranhão (MA), Piauí (PI) e Pará (PA), no ano de 2021.....	18
Tabela 2.1 - Índice de diferenciação genética entre clusters (F_{ST}) de <i>Pilocarpus microphyllus</i> . Os valores mais altos e mais baixos de F_{ST} entre os clusters são destacados (negrito).....	44
Tabela 2.2 - Medidas de diversidade genética para os clusters genéticos neutros identificados de <i>Pilocarpus microphyllus</i> na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. O número de indivíduos amostrados (N), seguido da heterozigosidade média esperada (H_E), coeficiente de endogamia (F_{IS}), estimativa de polimorfismo de nucleotídeos (π), Tajima's D e tamanho efetivo da população (N_E). Todas as estimativas são mostradas com seus intervalos de confiança de 95% (ICs). Os valores em negrito representam valores significativos para F_{IS} e Tajima's D.....	44
Tabela 3.1 - Análise do desempenho dos modelos utilizando a métrica TSS e curva ROC....	67
Tabela 3.2 – Variáveis bioclimáticas e estatística da distribuição atual.....	67
Tabela 3.3. Estatísticas calculadas em cada área-chave de distribuição potencial de <i>P. microphyllus</i>	69

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AMAZ	Aceleradora de negócios de impacto do norte do país
BAG	Banco de Germoplasma
COEX	Carajás Cooperativa dos Extrativistas da Floresta Nacional de Carajás
CMIP6	<i>Coupled Model Intercomparison Project Phase6</i>
CNCFlora	Centro Nacional de Conservação da Flora
CNF	<i>Carajas National Forest</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GCMs	Modelos Climáticos Globais
FLONA	Floresta Nacional
GSPC	Estratégia Global para Conservação de Plantas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IPBES	Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos
IPCC	Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas
IUCN	União Internacional para Conservação da Natureza
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas
PCA	Análise de Componentes Principais
PPA	Programa de Aceleração da Plataforma Parceiros pela Amazônia

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1 Referencial Teórico	21
1.1.1 <i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf ex. Wardl - características gerais e distribuição geográfica	21
1.1.2 Fenologia de <i>Pilocarpus microphyllus</i>	23
1.1.3 Diversidade Genética e suas aplicações na conservação	26
1.1.4 Extrativismo, manejo e geração de renda do jaborandi	30
1.1.5 Os efeitos do clima futuro sobre as populações de plantas	35
1.2 Justificativa e interdisciplinaridade da pesquisa	40
1.3 Questões científicas	42
1.4 Hipóteses e Projeções	42
1.5 Objetivos	43
1.5.1 Objetivo Geral	43
1.5.2 Objetivos Específicos	43
2.1 Estrutura da Tese	43
CAPÍTULO 2 DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA DE <i>PILOCARPUS MICROPHYLLUS</i> (RUTACEAE) NA AMAZÔNIA ORIENTAL: IMPLICAÇÕES PARA ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO E MANEJO	46
2.1 Introdução	48
2.2 Materiais e métodos	51
2.2.1 Material vegetal	51
2.2.2 Extração de DNA e estimativa do tamanho do genoma	52
2.2.3 Sequenciamento RAD e descoberta dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP).....	53

2.2.4 Conjunto de dados neutros	53
2.2.5 Diversidade genética e estrutura populacional	54
2.2.6 Tamanho mínimo da amostra para a conservação da diversidade genética do jaborandi	55
2.3 Resultados	56
2.3.1 Estrutura populacional e diversidade genética	56
2.3.2 Tamanho mínimo da amostra para a conservação da diversidade genética do Jaborandi	60
2.4 Discussão	62
2.4.1 Estrutura genética e diversidade.....	62
2.4.2 Implementação de banco de germoplasma	63
2.6 Conclusões	64
 CAPÍTULO 3 DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE <i>PILOCARPUS MICROPHYLLUS</i> NOS BIOMAS AMAZÔNIA/CERRADO SOB OS CENÁRIOS FUTUROS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS.....	
3.1 Introdução	75
3.2 Materiais e Métodos	79
3.2.1 Espécie estudada, área de estudo e dados de coleta	79
3.2.2 Variáveis bioclimáticas no clima atual e cenários futuros	80
3.3.3 Modelagem de distribuição de espécies (MDE)	80
3.4 Resultados	82
3.5 Discussão	86
3.6 Conclusão	89
 CAPÍTULO 4 CONCLUSÃO GERAL	
4.1 Resultados Chave: Impactos e Implicações	97
4.2 Conclusões de forma integrada	97

4.3 Propriedades para pesquisas futuras	99
4.4 Considerações Finais	100
REFERÊNCIAS.....	101

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

As florestas tropicais abrigam uma fração significativa da biodiversidade global, pois é vista como um importante contribuinte em armazenar boa parte dos estoques totais de carbono (Malhi, 2012; Poorter *et al.*, 2015). A Amazônia abriga cerca de 40% desse ecossistema global de florestas (Aragão *et al.*, 2014; Laurence *et al.*, 2001; Nobre, 2014), porém grande parte dessa biodiversidade tem se perdido devido ao desmatamento causado pela rápida expansão da exploração madeireira, pecuária, mineração, agricultura e pelo extrativismo vegetal desordenado (Cruz *et al.*, 2021; Mammadova *et al.*, 2022). Nesse sentido, o desmatamento da Amazônia e as mudanças climáticas se associam ao aumento da temperatura do ar próximo à superfície (Baker; Spracklen, 2019, Cohn *et al.*, 2019; Prevedello *et al.*, 2019) e ao aumento na frequência dos eventos climáticos extremos, como secas e inundações (Nepstad *et al.*, 2008; Sena; Corvalan; Ebi, 2014; Wu *et al.*, 2016; Stoy, 2018; Leite-Filho; Pontes; Costa, 2019).

Além dos impactos no clima, o desmatamento apresenta impactos econômicos, uma vez que elimina produtos com potencial comercial, como por exemplo, a madeira e os produtos não-madeireiros (Nambiar, 2019; Romero *et al.*, 2020; Brandão *et al.*, 2021). Na Amazônia, estima-se que mais de 10.000 espécies vegetais com potencial comercial já são utilizadas como produtos alimentícios, medicinal, cosmético e no controle biológico de pragas e/ou doenças (Herculano, 2013; Miguel, 2007; Jordão, 2019). Geralmente, as plantas medicinais das Amazônia são exploradas por meio do extrativismo, o qual juntamente à expansão da fronteira agrícola vem promovendo a redução ou perda de habitat, isolamento de populações de ocorrência natural das espécies, mudanças nos padrões de migração e dispersão das espécies (Almeida *et al.*, 2019; Brandão; Barata; Nobre, 2022; Oliveira *et al.*, 2022).

O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth) é uma espécie medicinal, de porte arbustivo pertencente à família Rutaceae e gênero *Pilocarpus*, encontrada, atualmente, nos estados do Maranhão, Pará e Piauí (Martinelli; Moraes, 2013). Das suas folhas são extraídas a *pilocarpina*, um alcalóide tradicionalmente utilizado na fabricação de colírios, remédios para cirurgias e tratamentos oftalmológicos como o glaucoma e xerostomia (Moura *et al.*, 2005; Abreu *et al.*, 2011; Caldeira *et al.*, 2017). As folhas do jaborandi são provenientes do extrativismo realizado pelas comunidades locais, sendo essa atividade importante fonte de

renda para muitas famílias que dependem do extrativismo de produtos florestais não madeireiros, além de proporcionar a sobrevivência da espécie no seu habitat natural (Pinheiro, 2002; Homma, 2004).

A intensa coleta das folhas do jaborandi para a retirada da pilocarpina, desde o final do século XIX levou ao desaparecimento da espécie em determinadas áreas. Diante disso, a partir de 1992, esta espécie foi inserida na lista de plantas brasileiras em perigo por meio da Portaria Normativa IBAMA 37-N, de 3 de abril de 1992 (Homma; Menezes, 2014; Costa, 2005) e, conforme os critérios do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA), o *P. microphyllus* continua sob ameaça de extinção na categoria “Em Perigo”. Estes critérios ressaltam a redução do tamanho da população, havendo um declínio na área de ocupação, qualidade do hábitat e no número de populações naturais em aproximadamente 50% nos últimos 10 anos (Martinelli; Moraes, 2013) sendo necessárias ações para sua conservação e o manejo sustentável da espécie em condições naturais.

Atualmente, a Floresta Nacional de Carajás (FLONA), localizada no Estado do Pará, é considerada uma das maiores reservas naturais de *P. microphyllus* do estado (Costa, 2012). Apesar do intenso desmatamento até as bordas da FLONA de Carajás, seu interior tem sofrido menor pressão de perda de cobertura vegetal (Souza-Filho *et al.*, 2016), o que tem proporcionado a manutenção e exploração do *P. microphyllus*, que ocorre comumente no sub-bosque da floresta. Em Carajás, o extrativismo do jaborandi é realizado pela cooperativa dos extrativistas de Carajás (CoEx-Carajás) autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). O objetivo da criação da CoEx-Carajás foi possibilitar o manejo sustentável do jaborandi. Além de realizar o monitoramento da espécie para garantir que a atividade extrativista não gere impactos negativos (Homma; Menezes, 2014; Bannitz *et al.*, 2015).

O extrativismo desordenado reduz a variabilidade genética de suas populações a níveis críticos e, conseqüentemente levando a extinção das populações em curto prazo. Por conta disso, os níveis de variabilidade genética foram inseridos pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) como um dos parâmetros populacionais a serem usados na classificação de espécies ameaçadas. Os baixos níveis de variabilidade genética relacionados com outros fatores, como a estruturação genética, a história de vida da espécie e o modo reprodutivo, mostram-se como o passo inicial para a extinção de espécies, subespécies ou grupos

populacionais. A informação genética proveniente de estudos com espécies selvagens e ameaçadas de extinção é de extrema importância para apoiar estratégias de gestão e conservação (Feng *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019; Rodger *et al.*, 2021; Thomas *et al.*, 2021; Tikendra *et al.*, 2021). Além disso, o entendimento da diversidade genética é essencial para as espécies se adaptarem às mudanças climáticas e habitats, incluindo as interações entre os fatores bióticos (Kort *et al.*, 2021; Guan *et al.*, 2021; Razgour *et al.*, 2019).

1.1 Referencial Teórico

1.1.1 *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex. Wardl - características gerais e distribuição geográfica

O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex. Wardl) pertence à família Rutaceae, é um arbusto ou arvoreta que ocorre preferencialmente no sub-bosque, é bastante ramificada, perene e alógama. Possui aproximadamente 1 a 6 m de altura, com folhas compostas de folíolos sésseis e pequenos que liberam um cheiro forte quando esmagados (Skorupa, 2000). As populações dessa planta formam agregados denominados popularmente de “reboleiras ou bolas” (Gumier-Costa; Jesus, 2007). Apresentam flores bissexuadas e, seus frutos são do tipo esquizocarpo, com a dispersão feita por deiscência explosiva, como em outras espécies do gênero *Pilocarpus* (Figura 1.1) (Skorupa, 2000; Pirani; Devecchi, 2018).

Como falado anteriormente, as flores de *P. microphyllus* são hermafroditas, porém atualmente, não temos informações específicas sobre o processo de reprodução ou a maneira como ocorre a polinização. Dentro da Subfamília Zanthoxyloideae da família Rutaceae, a maioria das espécies é entomófila, ou seja, atrai insetos para polinização através de características como o aroma das flores e/ou a oferta de néctar (Appelhans *et al.*, 2021; Groppo; Afonso; Pirani, 2022). Por outro lado, algumas espécies de *Pilocarpus* aparentam seguir uma estratégia sapromiófila, possuindo flores com odor desagradável e coloração vermelha/roxa para atrair moscas polinizadoras (Skorupa, 1996; Groppo; Afonso; Pirani, 2022).

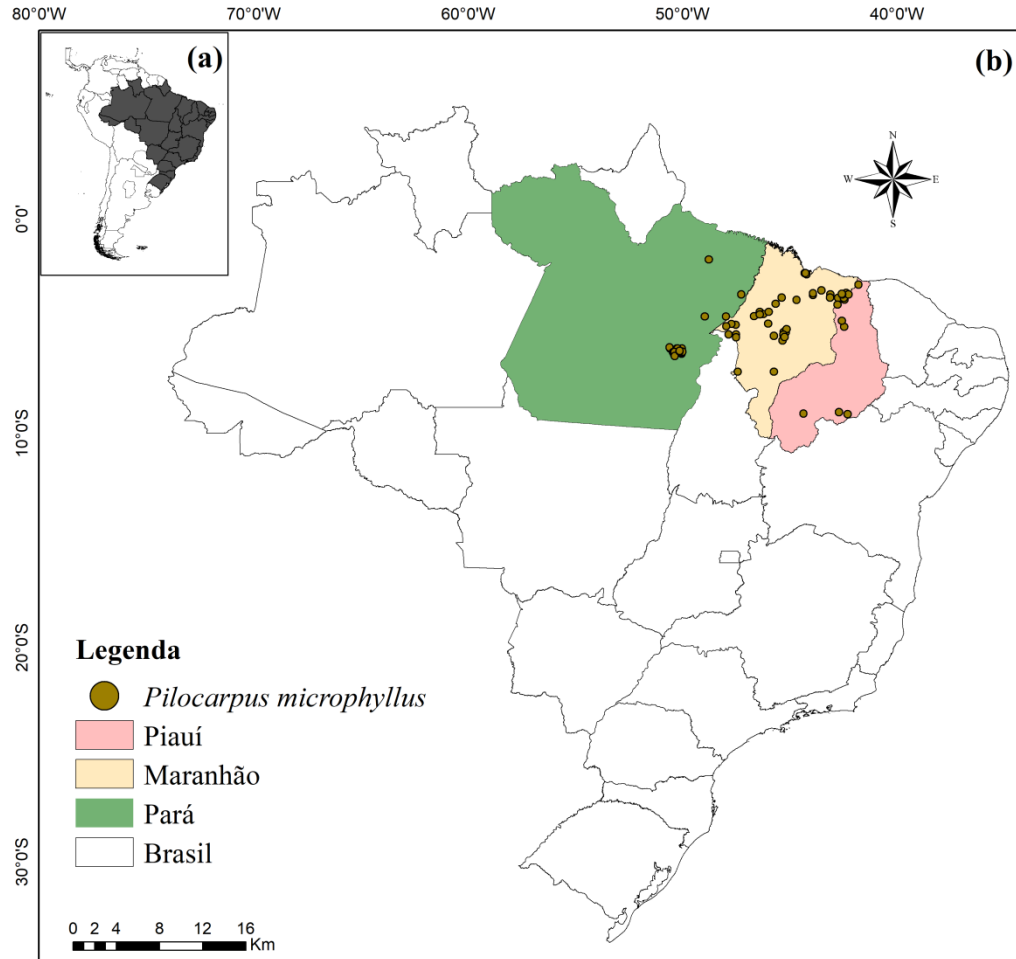
Figura 1.1 – *Pilocarpus microphyllus*. (a) *P. microphyllus* na fase de floração. (b) Flores.



Fonte: Pirani e Devecchi (2018).

Pilocarpus microphyllus é restrita ao Brasil, ocorrendo no leste do Pará, noroeste e norte do Maranhão, e Piauí (Skorupa, 2000) (Figura 1.2). É uma planta nativa de região de clima quente e úmido, demonstra um bom crescimento vegetativo em chapadões arenosos, sendo também encontrado em florestas ombrófilas densas e abertas, frequentemente em clareiras, e em afloramentos rochosos. No estado do Pará, o jaborandi ocorre nas Florestas Nacionais Tapirapé-Aquiri, Itacaiúnas e Floresta Nacional de Carajás (Silva, 1991; Costa, 2005; Gumier-Costa *et al.*, 2016). No território maranhense, é viável identificar a ampla disseminação de *P. microphyllus*, ocorrendo do oeste ao norte do estado. Enquanto que, no estado do Piauí, a presença da espécie revela-se particularmente ao norte do estado (Pinheiro, 1997; Skorupa, 2000). Apesar da espécie não ser endêmica no Brasil, é notória a sua presença particularmente marcante neste país.

Figura 1.2 – Mapa de distribuição espacial de *Pilocarpus microphyllus*. **(b)** Os pontos na cor bege indicam os locais onde as plantas de *P. microphyllus* são encontradas no Brasil.

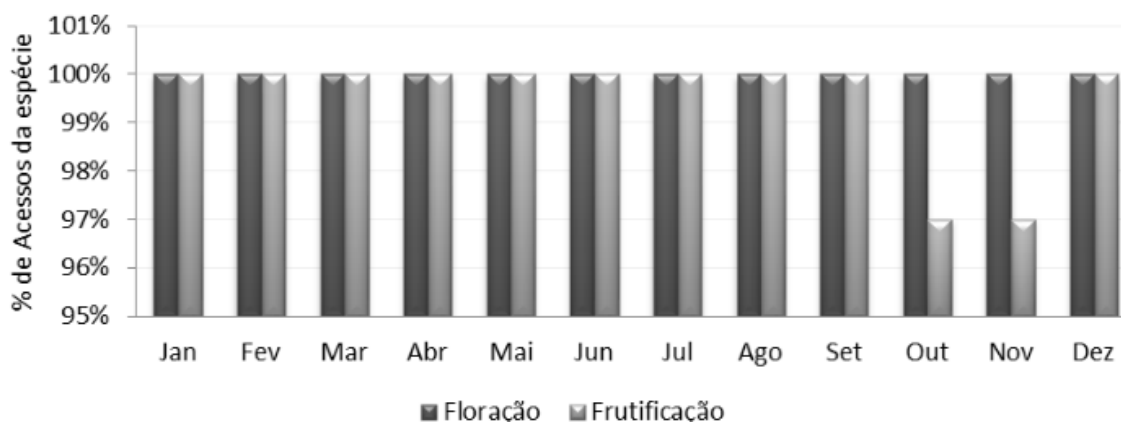


Fonte: Da autora.

1.1.2 Fenologia de *Pilocarpus microphyllus*

A ocorrência da floração e frutificação do jaborandi exhibe variações conforme sua região, todavia, segundo Moreira *et al.* (2021), é possível afirmar que, os eventos de floração e frutificação ocorrem durante o ano inteiro, indicando que a espécie possui as fenofases bem distribuídas ao longo do ano. Ainda, conforme Moreira *et al.* (2021), observou-se uma relativa uniformidade na distribuição das frequências fenológicas ao longo do ano, com exceção dos meses de outubro e novembro, os quais registraram um menor percentual de acessos com frutificação (Figura 1.3).

Figura 1.3 – Percentagens de ocorrência das fenofases nos acessos de *Pilocarpus microphyllus*.

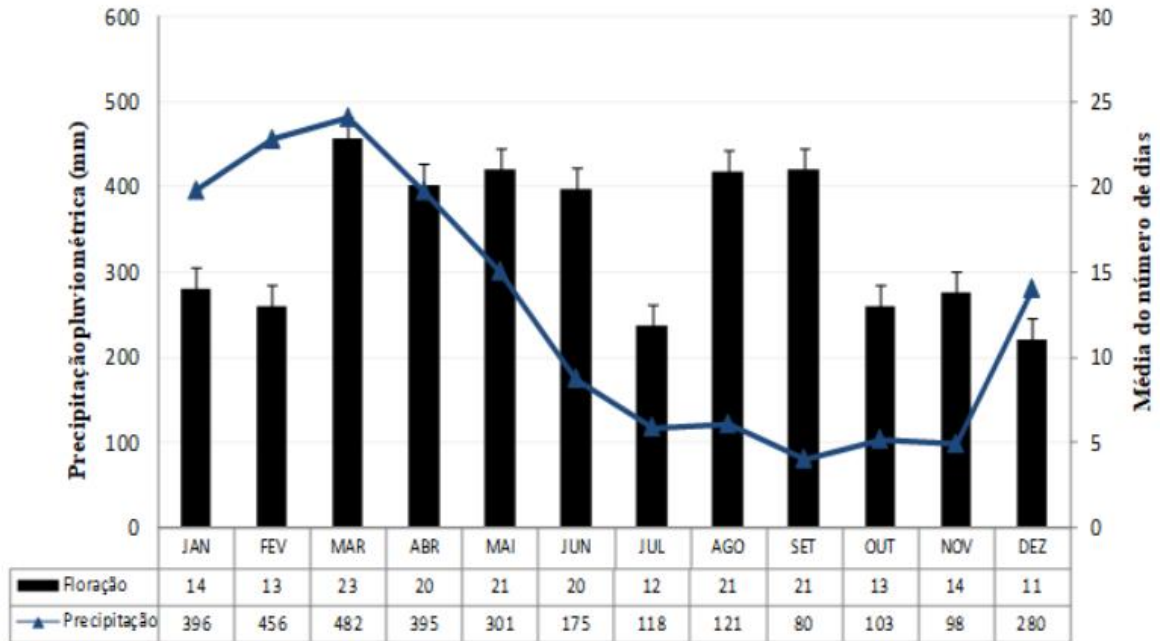


Fonte: Moreira *et al.* (2021).

De modo geral, o período de floração da espécie ocorre entre os meses de março e julho, podendo se estender até setembro em certas localidades (Skorupa, 2000). Por exemplo, Muniz (2008) destaca o período de floração entre os meses de abril a maio desta espécie no Nordeste do Brasil. Moreira *et al.* (2019) demonstram o maior número médio de ocorrências das fenofases, para o *Pilocarpus microphyllus*, no mês de março, seguidas pelos meses de maio, agosto e setembro e com a menor média de floração sendo registrada no mês de dezembro (Figura 1.4). Vale ressaltar que as fases fenológicas em espécies de plantas estão fortemente relacionadas com os fatores climáticos como precipitação e temperatura (Gomes *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2023; Bartlett *et al.*, 2023).

Moreira *et al.* (2019) destaca fortemente a relação entre os fatores climáticos e a fenologia para o jaborandi. Os autores observaram que o pico de florescimento da espécie se deu no mês de março, o qual corresponde com a maior média de precipitação pluviométrica (482,0 mm) quando comparado com os outros meses conforme o período analisado no estudo (Figura 1.4). De Assis *et al.* (2016) também relatam os maiores números de dias de floração coincidindo com a maior média pluviométrica para o jaborandi.

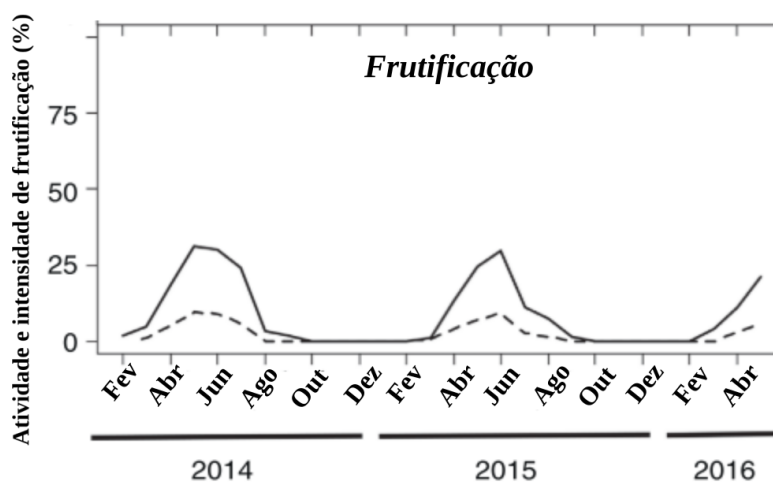
Figura 1.4 – Média do número de dias da floração de *Pilocarpus microphyllus* e os valores de precipitação pluviométrica, durante o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2018.



Fonte: Moreira *et al.* (2019).

Segundo Skorupa (2000), o período de frutificação da espécie acontece no intervalo de março a setembro, podendo, em algumas áreas, estender-se até dezembro. O padrão de frutificação observado no estudo de Caldeira *et al.* (2017) apontou que o pico de atividade de média dias de ocorrência de frutificação, para o jaborandi, na Floresta Nacional de Carajás, ocorreu nos meses de Maio e Junho, finalizando entre os meses de julho/agosto (Figura 1.5), coincidindo com o período seco na região.

Figura 1.5 – Atividade e intensidade de frutificação mensal, no período de fevereiro de 2014 a abril de 2016. As linhas sólidas representam máximo de precipitação e as linhas pontilhadas representam o mínimo da temperatura na região.



Fonte: Adaptado de Caldeira *et al.* (2017).

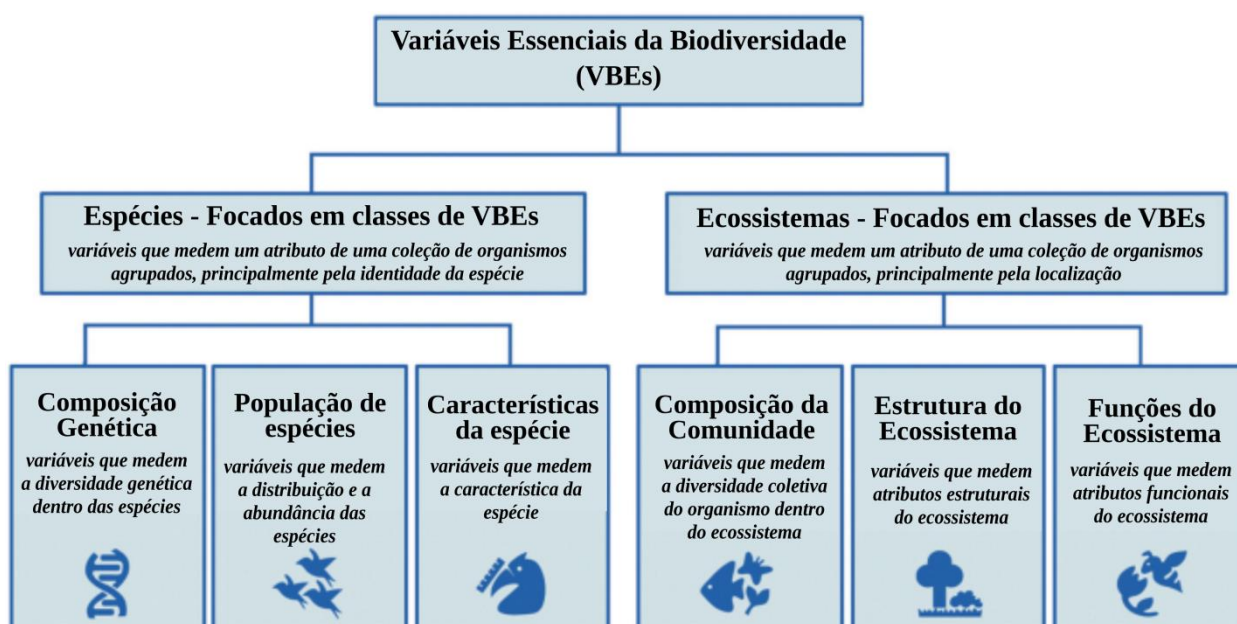
1.1.3 Diversidade Genética e suas aplicações na conservação

A diversidade genética possui um papel importante na resiliência do ecossistema e na manutenção da diversidade das espécies. Este parâmetro fornece alto potencial adaptativo às espécies e populações para confrontar os efeitos provocados pelos impactos ambientais, como as mudanças climáticas, poluições e doenças. Para espécies raras e com riscos de extinção, o conhecimento desta medida é fundamental para a formulação de estratégias eficientes de manejo e conservação (Hoban *et al.*, 2020). A diversidade genética pode ser medida através da heterozigosidade observada (H_o) obtida a partir das frequências genotípicas observadas e heterozigosidade esperada (H_e) com base nas frequências alélicas de uma população, considerando os pressupostos do Princípio de Hardy-Weinberg. O valor de H_e possibilita medir o nível de variação genética em uma população de uma determinada espécie, independente do sistema de cruzamento (Nei, 1973). Além dessas, uma outra medida importante na determinação de estratégias para conservação é a riqueza de alelos (A_r). A riqueza alélica é mais sensível à redução no tamanho populacional quando comparado com a heterozigosidade, em virtude da eliminação de alelos (Barrandeguy; García; 2021; Cornuet; Luikart, 1996).

Além desses coeficientes o tamanho efetivo populacional (N_E) também vem sendo uma importante métrica no delineamento de estratégias de conservação de uma espécie (Rieman;

Allendorf, 2001; Harmon; Braude, 2010). Essa medida refere-se ao tamanho populacional ideal (Fisher, 1930; Wright, 1931), a qual tem as mesmas taxas de frequências alélicas ou de heterozigiosidade das populações observadas. Hoban *et al.* (2022) propuseram quatro VBEs (variáveis de biodiversidade essenciais) de composição genética, dentre os quais incluem o N_E . As VBEs foram, primeiramente, propostas pelo Grupo de Observações da Terra Rede de Observação da Biodiversidade (GEO BON), com o objetivo de auxiliar no monitoramento da diversidade biológica de forma global (Pereira *et al.*, 2013; Hardisty *et al.*, 2019) (Figura 1.6).

Figura 1.6 – Estrutura das seis classes de VBE agrupadas por abordagens focadas nas espécies e nos ecossistemas.



Fonte: Adaptado de Fernández *et al.* (2020).

De acordo com Hoban *et al.* (2022), VBE genéticos têm grande importância para as metas globais, incluindo a Metas 13 de Biodiversidade de Aichi; Metas 2.5, 14 e 15 do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU; e para as Metas 5 e 9 da Estratégia Global para Conservação de Plantas (GSPC) (CBD, 2011; CBD, 2020; ONU, 2015) (Quadro 1.1). Recentemente, as VBE genéticas, a qual não tinham sido definidas ou examinadas de forma detalhada, anteriormente (Pereira *et al.*, 2013; Kissling *et al.*, 2018), foram associadas à tomada de decisões de conservação na publicação 'Effective Biodiversity Indicators' do governo do Reino Unido (Henly; Wentworth, 2021) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) inseriu o tamanho efetivo da população (N_E) como um parâmetro para o monitoramento genético florestal (Graudal *et al.*, 2020).

Quadro 1.1 – Objetivos de Metas e Estratégias que relatam a diversidade genética.

Metas	Objetivos
Meta Aichi	13: “ <i>Em 2020, a diversidade genética de plantas cultivadas e animais domésticos e de seus parentes selvagens, incluindo outras espécies de importância social, econômica e cultural, deve estar mantida, e devem ser desenvolvidas e implementadas estratégias para minimizar a erosão genética e proteger sua diversidade genética</i> ”
Metas ODS	<p>2.5: “<i>Até 2020, manter a diversidade genética de sementes, plantas cultivadas, animais de criação e domesticados e suas respectivas espécies selvagens, inclusive por meio de bancos de sementes e plantas diversificados e bem geridos em nível nacional, regional e internacional, e garantir o acesso e a repartição justa e equitativa dos benefícios decorrentes da utilização dos recursos genéticos e conhecimentos tradicionais associados, como acordado internacionalmente</i>”</p> <p>14: “<i>Conservar e usar de forma sustentável os oceanos, mares e os recursos marinhos para o desenvolvimento sustentável</i>”</p> <p>15: “<i>Proteger, restaurar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, travar e reverter a degradação dos solos e travar a perda da biodiversidade</i>”</p>
Estratégia Global para Conservação de Plantas - GSPC	<p>5: “<i>Pelo menos 75 por cento das áreas mais importantes para a diversidade de plantas de cada região ecológica, protegida por meio de manejo efetivo para a conservação de plantas e de sua diversidade genética</i>”</p> <p>9: “<i>70 por cento da diversidade genética de culturas, incluindo os seus parentes silvestres e outras espécies de plantas de importância sócio-econômica conservadas, enquanto respeitando, preservando e mantendo o conhecimento indígena e local associado</i>”</p>

Fonte: Da autora.

O entendimento da diversidade genética em espécies vegetais é relevante, uma vez que, o conhecimento ocasionado por estudos de diversidade geram informações valiosas sobre os dados demográficos, reprodução e ecologia. Esses auxiliam no estabelecimento de estratégias para o manejo dos recursos genéticos e áreas de conservação (Wang *et al.*, 2020; Zaya *et al.*, 2017; Yun *et al.*, 2020). A diversidade genética pode ser avaliada usando marcadores moleculares como o Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs), definidos como substituição de uma única base ao longo de uma sequência de DNA que variam entre os indivíduos (Caetano, 2009; Primmer *et al.*, 2002). Este marcador apresenta alta frequência e cobertura genômica mais ampla, além de facilitar a obtenção de milhares de marcadores em organismos não modelo por meio de sequenciamentos de nova geração (Helyar *et al.*, 2011; Vignal *et al.*, 2002).

Estudos recentes utilizando marcadores SNPs têm ajudado a avaliar a diversidade genética de algumas espécies pertencentes a família Rutaceae. Em seu estudo sobre cultivos de *Zanthoxylum bungeanum* e *Zanthoxylum armatum* na China, Feng *et al.* (2020) verificaram que os cultivos analisados apresentaram alta diversidade genética e, portanto, podem ser úteis para conservação e manejo dos recursos de germoplasma. Além disso, Monteiro *et al.* (2022), utilizando marcadores SNPs para estudar populações naturais de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew. na Amazônia Oriental, encontraram alta diversidade genética entre as populações, apesar da colheita contínua feita nas últimas décadas. Ademais, os resultados obtidos fornecem informações importantes para desenvolver estratégias de conservação e servir como base para a concepção de um banco de germoplasma.

O conhecimento ecológico e genético é essencial para o entendimento da estrutura genética de populações nativas para o delineamento de estratégias de conservação (Monteiro *et al.*, 2022; Dalapicolla *et al.*, 2021; Taylor *et al.*, 2021), melhoramento e manejo adequado das espécies (Fine *et al.*, 2019; Makanjoula *et al.*, 2020; Degirmenci; Acar; Zaia, 2019), recuperação de áreas degradadas e coletas de sementes para plantio de espécies nativas (Hoban; Strand, 2015; Hoban *et al.*, 2018). O entendimento da diversidade genética tem sido fundamental em gerar informações que contribuirá para a preservação das áreas florestais na Amazônia, na redução das taxas de desmatamento e, também garantindo a geração de renda para inúmeras famílias ao longo dos próximos anos, uma vez que, estas dependem do extrativismo de importantes espécies de plantas com grande relevância econômica na Amazônia (Fouet *et al.*, 2022; Monteiro *et al.*, 2022; Ramos *et al.*, 2021). Além disso, as informações genéticas são essenciais para o plano de gestão das espécies (Hoban *et al.*, 2021; Hoban *et al.*,

2020; Jost *et al.*, 2018; Jamieson; Allendorf, 2012), tais como no desenvolvimento de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* (Flower *et al.*, 2018; Griffith *et al.*, 2020).

A Estratégia Global para Conservação de Plantas (CBD, 2011) aborda nos artigos 7 e 8 sobre a conservação *in situ* e *ex situ*. Embora, a Convenção priorize a conservação *in situ*, a mesma também destaca a importância da conservação *ex situ* na implementação de estratégias para a conservação de plantas. Além disso, o artigo 13 da Estratégia Global para Conservação de Plantas (GSPC), destaca a importância das comunidades indígenas e locais que através dos estilos de vida tradicionais possuem uma contribuição significativa para a conservação e uso sustentável da biodiversidade (CBD, 2011; Sharrock, 2012). Conforme Sharrock (2012) o conhecimento tradicional pode trazer contribuições valiosas para o desenvolvimento sustentável e, Karki (2020) também destaca que o conhecimento indígena e local e as práticas tradicionais fornecem informações significativas para alcançar os avanços socioeconômicos gerais descritos nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), incluindo o Acordo de Paris.

1.1.4 Extrativismo, manejo e geração de renda do jaborandi

A Amazônia possui umas das principais reservas de florestas tropicais úmidas contínuas do mundo, abrigando cerca de 1/3 do estoque genético natural do planeta (Homma *et al.*, 2012). Estima-se que existam na região aproximadamente 60.000 espécies de plantas, dentre elas, plantas medicinais, que possuem um importante papel no cenário econômico para a extração de princípios ativos utilizados na produção de drogas, como por exemplo, substâncias empregadas no tratamento de câncer (Portal *et al.*, 2023; Maia *et al.*, 2023). Geralmente, na floresta Amazônica, ocorre o extrativismo e o manejo de produtos florestais não madeireiros (PFNMs). Dentro desta categoria, podemos destacar: frutas nativas como açaí, cupuaçu, cacau; diversos vegetais folhosos, como o jambu e o cariru e; plantas medicinais como copaíba, andiroba e jaborandi (Lima *et al.*, 2020; Garcia, *et al.*, 2018; Santos; Lobão; Araujo, 2020). Na Amazônia, o extrativismo dos PFMNs se destaca por ser uma atividade com potencial para geração de renda e emprego para as comunidades locais, além de promover a conservação ambiental (Giatti *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2019).

O jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew. - Rutaceae) é restrita ao Brasil, com distribuição geográfica, ocorrendo desde o leste do Pará, oeste e norte do Maranhão, até o estado do Piauí (Skorupa, 2000) Possui grande importância econômica, uma vez que, das suas folhas são extraídas a *pilocarpina*, substância utilizada na fabricação de colírios para o glaucoma (Jain; Verma; Jain, 2020). Além disso, o extrativismo do jaborandi possui um alto impacto social, devido essa atividade ser uma das responsáveis pelo sustento de muitas famílias nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (Grabher, 2015; Costa, 2012; Homma; Menezes, 2014). Segundo Homma e Menezes (2014), no auge do extrativismo do jaborandi (1970-1980), a coleta das folhas nos estados do Maranhão e Pará chegaram a corresponder à maior renda de inúmeras famílias, estimando-se atingir até 25 e 1,2 mil famílias, em cada estado, respectivamente.

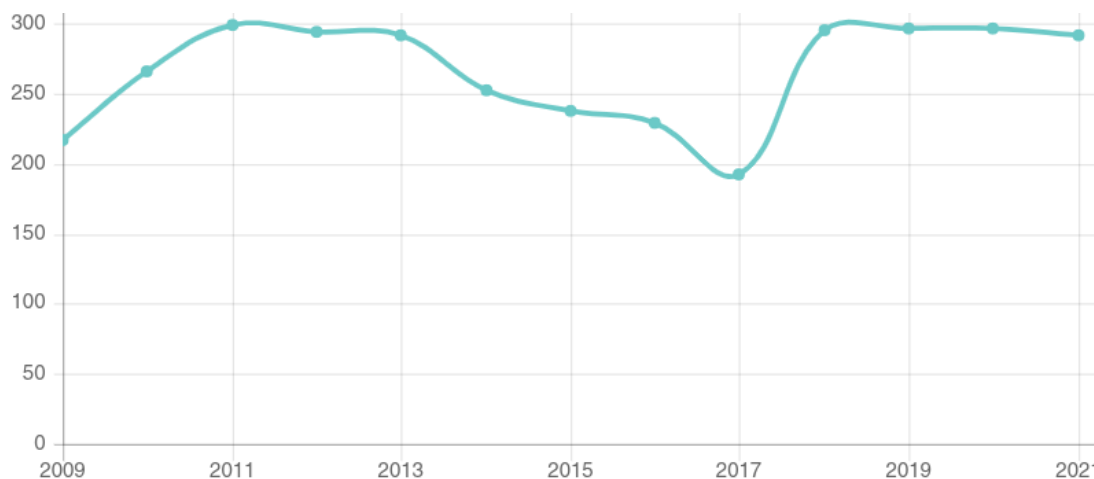
Atualmente, toda produção de pilocarpina é oriunda do Brasil e segundo a Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica e de Insumos Farmacêuticos (Abiquifi, 2020) a exportação da *pilocarpina*, em 2017, rendeu cerca de 9,7 milhões de dólares. Dados do IBGE (2021) têm demonstrado um aumento, após uma queda em 2017, na extração das folhas do jaborandi, no Brasil, a partir de 2018 (Figura 1.7). No Brasil, o maior centro de produção das folhas do jaborandi, ocorre no estado do Maranhão, seguido pelo Piauí e o estado do Pará. No ano de 2021, o estado do Maranhão produziu cerca de 51,20% de toda produção nacional (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 – Extração de folhas de jaborandi em toneladas (ton.) e em porcentagens (%) no Brasil (BR) e nos estados do Maranhão (MA), Piauí (PI) e Pará (PA), no ano de 2021.

Localização	Produtividade	
	Ton.	(%)
BR	291	100
MA	149	51,20
PI	104	35,73
PA	38	13,05

Fonte: IBGE (2021).

Figura 1.7 – Quantidade produzida na extração de folhas do jaborandi (em toneladas), no Brasil, no período de 2009 a 2021. Círculo (em preto) marca o aumento na extração de folhas a partir do ano de 2018.



Fonte: IBGE (2021).

No estado do Pará, mais precisamente na FLONA de Carajás, o extrativismo do jaborandi é realizado, exclusivamente, pela CoEx-Carajás. Os colhedores da folha de Jaborandi, denominados de folheiros, tem atuado na região desde a década de 80, porém somente em 1997 houve a criação da Cooperativa, inicialmente chamada de Yaborandi. A partir desse momento, houve a necessidade de delinear um Plano de Manejo para que o mecanismo de colheita fosse organizado e com menos impacto ao extrativismo das folhas (Bannitz *et al.*, 2015; Gumier-Costa *et al.*, 2016).

Com o Plano de Manejo, a coleta das folhas do jaborandi é feita com tesoura de poda e rodízio de corte, colhendo 1 ano e falhando dois (ICMBio, 2017). As coletas acontecem nos meses de julho a dezembro, período chuvoso na região. Durante esse período, os folheiros seguem uma rotina dinâmica, onde passam de 20 a 30 dias no interior da FLONA de Carajás, fazendo a colheita. A coleta é feita de forma individual, mas, mesmo que a coleta seja de responsabilidade de cada cooperado, estes se subdividem em grupo de 2 a 5 homens para que não fiquem totalmente sozinhos (Bannitz *et al.*, 2015; ICMBio, 2017). É importante destacar que essa atividade é totalmente feita somente por homens, devido o transporte das folhas serem feitas no ombro até o local de embarque do caminhão (Homma; Menezes, 2014) (Figura 1.8).

A Cooperativa conta com vários parceiros, como o instituto Chico Mendes da Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Vale, EMBRAPA, GTZ (Agência Alemã de

Cooperação Técnica) e a Centroflora (antiga Vegeflora), principal compradora das folhas do jaborandi coletadas na FLONA de Carajás (Bannitz *et al.*, 2015; Costa, 2012). De acordo com Gumier-Costa *et al.* (2016) o laboratório alemão Boehringer Ingelheim é um dos seus principais clientes da Centroflora na compra da *pilocarpina* para produção de colírios antiglaucomatosos. A coleta de folhas do jaborandi na FLONA de Carajás tem se mostrado uma atividade economicamente viável e com grande rentabilidade aos extrativistas da CoEx-Carajás. Segundo o Programa de Aceleração (PPA, 2020) os extrativistas chegam a receber uma renda mensal variando entre R\$ 2 mil e R\$ 2,5 mil advindos somente da colheita das folhas. E, de acordo com o relatório da Amaz (2022) cerca de 160 famílias foram beneficiadas com a comercialização da folha do jaborandi e coleta de sementes nativas na região de Carajás.

Figura 1.8 - Processo de coleta das folhas do Jaborandi na FLONA de Carajás-PA.



Fonte: ICMBio (2017).

Nos últimos anos, o extrativismo do jaborandi tem ganhado mais força e vem sendo cada vez mais valorizado, especialmente, pelo fato de ser uma atividade que desempenha um papel significativo na geração de renda para inúmeras famílias. Além disso, atua como uma importante ferramenta que contribui para a conservação das florestas (Grabher, 2015; Gumier-

Costa, 2012), uma vez que, a Cooperativa também faz a coleta de sementes de outras espécies que são utilizadas para reflorestamento. Conforme o relatório de impacto da Amaz (2022) 80,4 hectares foram reflorestados de forma direta utilizando sementes nativas. E, de acordo com Bannitz *et al.* (2015) nos últimos anos a CoEx-Carajás tem efetuado o manejo adequado do jaborandi, visto como a condição mais sustentável de retirada das folhas do arbusto. Nesse sentido, esse modelo de produção se aproxima das metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Figura 1.9) que compõem a Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU, 2015).

Figura 1.9 – Principais ODS relacionadas ao modelo de produção de coleta das folhas do jaborandi na FLONA de Carajás-PA.



Fonte: AMAZ (2022).

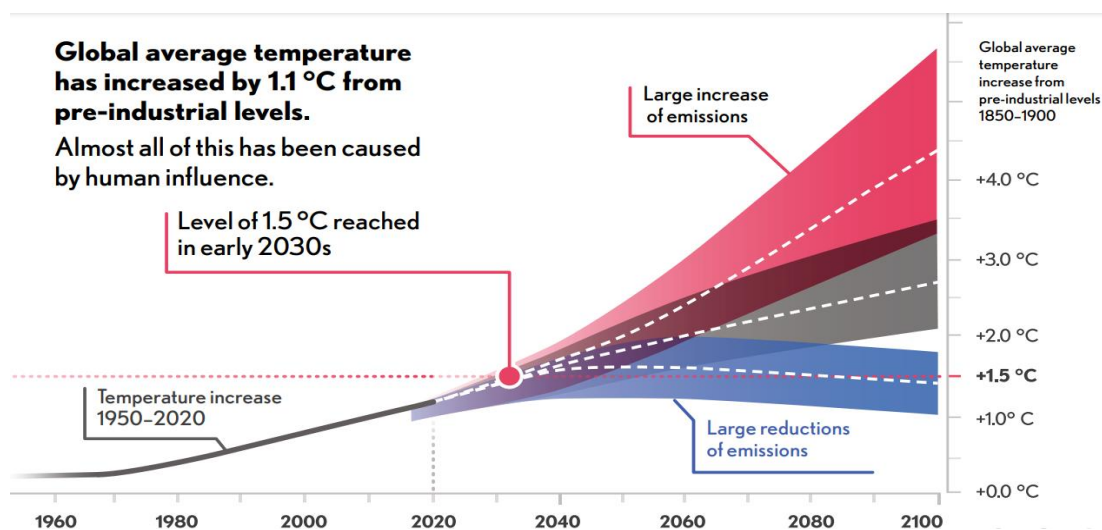
Dentro das reflexões trazidas pela ODS, as mudanças climáticas globais (ODS 13 da Agenda 2030 da ONU) vêm sendo debatido, principalmente, nas duas últimas décadas. Além disso, têm sido destacadas por vários estudos científicos e relatórios voltados para tomadores de decisão como os que são desenvolvidos pelo Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC). As mudanças climáticas estão impactando, em todo o mundo, os sistemas de subsistência das populações (Porter *et al.*, 2014; Clapp; Newell; Brent, 2018; Keller *et al.*, 2018) mais especificamente as de populações pobres e comunidades, as quais estão ligadas aos produtos extraídos diretamente da natureza (Lastra Landra; Grados Bueno, 2022; Blackmore *et al.*, 2021; Zavaleta *et al.*, 2018), como a extração de PFNMs praticados pelas populações tradicionais na Amazônia (Giatti *et al.*, 2021; Silva; Paraense, 2019; Moraes *et al.*, 2020). As

espécies vegetais estão entre os grupos mais vulneráveis às mudanças climáticas (Aleixo *et al.*, 2019; Fontes *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2021), e a mortalidade de árvores vem crescendo em razão da intensificação das estações seca e chuvosa (Mcdowell *et al.*, 2022; Anderegg *et al.*, 2019). Portanto, as mudanças climáticas previstas para o próximo século podem impactar de forma direta o extrativismo praticado pelas populações e comunidades tradicionais na Amazônia (Brandão; Barata; Nobre, 2022). Silva *et al.* (2016) destaca que os efeitos causados pelas mudanças climáticas não apenas causariam perdas de biodiversidade, mas também causariam impactos sociais, uma vez que, afetariam diretamente fonte de alimento e renda das populações. Com base nisso, há uma necessidade urgente de investigar as populações de *P. microphyllus*, identificando os principais fatores ecológicos que determinam a sua existência atual e futura. Além disso, detectar as regiões que serão mais afetadas pelas mudanças climáticas servirá como uma importante forma de mitigar os impactos socioambientais.

1.1.4. Os efeitos do clima futuro sobre as populações de plantas

As atividades humanas possuem influência significativa nas mudanças climáticas futuras, representadas principalmente na geração de emissões de gases do efeito estufa (IPCC, 2021, IPBES, 2019). De acordo com Sexto Relatório de Avaliação (AR6) do IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas) estima-se que as emissões de CO₂ e outros gases de efeito estufa resultarão no aumento da temperatura média global de 1,5°C a 2,0°C (Figura 1.10) nas próximas décadas e precipitações com mais intensidade devem ocorrer (IPCC, 2021). As mudanças resultantes do aumento da temperatura e precipitação acabam comprometendo a estabilidade e a diversidade dos ecossistemas florestais globalmente (Brown *et al.*, 2022; Hoban *et al.*, 2020). A taxa de extinção das espécies aumentará em decorrência de temperaturas mais quentes, o qual podem afetar o crescimento e o rendimento das plantas (Hatfield; Prueguer, 2015; Ogunkanmi; Maccarthy; Adiku; 2022).

Figura 1.10 - A temperatura média global aumentou 1,1 grau em comparação aos níveis pré-industriais, sendo que a grande maioria desse aumento foi provocada pela atividade humana. Segundo todos os cenários estudados, espera-se que um aquecimento de 1,5 graus seja alcançado por volta do início da década de 2030.

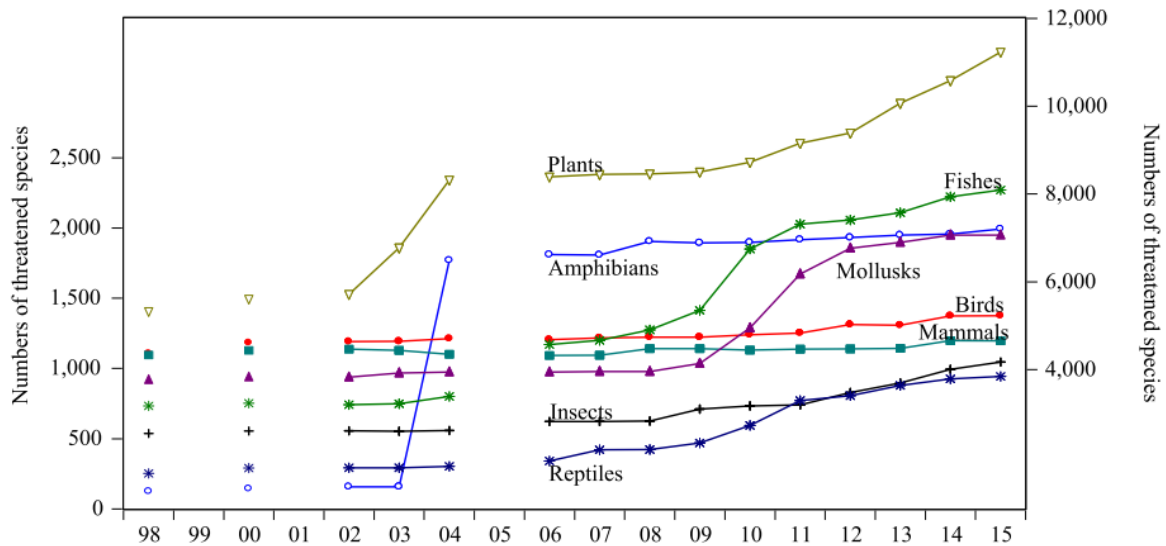


Fonte: Sexto Relatório de Avaliação (AR6) do IPCC (2021).

A nível global, um estudo recente demonstrou que quase 40% das espécies de plantas encontram-se ameaçadas de extinção (Nic Lughadha *et al.*, 2020). No Brasil, uma análise feita pela Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora) demonstrou que das 4.617 espécies de plantas que ocorrem no país, 2.118 espécies, cerca de 45%, estão ameaçadas de extinção em diferentes categorias (Martinelli; Moraes, 2013). As projeções climáticas já apontam que haverá o declínio no regime de chuvas e secas mais severas no nordeste e noroeste do Brasil (Jenkins; Warren, 2015; Cunha *et al.*, 2019; De Jong *et al.*, 2019).

De fato, o aumento da temperatura média e a alteração nos padrões da precipitação trazem impactos negativos diretos na agricultura, na segurança hídrica e geração de distribuição de energia e sobre a saúde (IPCC, 2021). Na natureza, as plantas estão entre os grupos mais frágeis e ameaçados pelas mudanças climáticas, pois as plantas não possuem a capacidade de realizar adaptações tão rápidas devido ao aumento da temperatura e stress hídrico causados pelas mudanças climáticas (Solomon; Kirilenko, 1997; Margrove *et al.*, 2015) (Figura 1.11).

Figura 1.11 – Crescimento e tendência no número de espécies ameaçadas em todo mundo, nas duas últimas décadas.



Fonte: Habibullah *et al.* (2022).

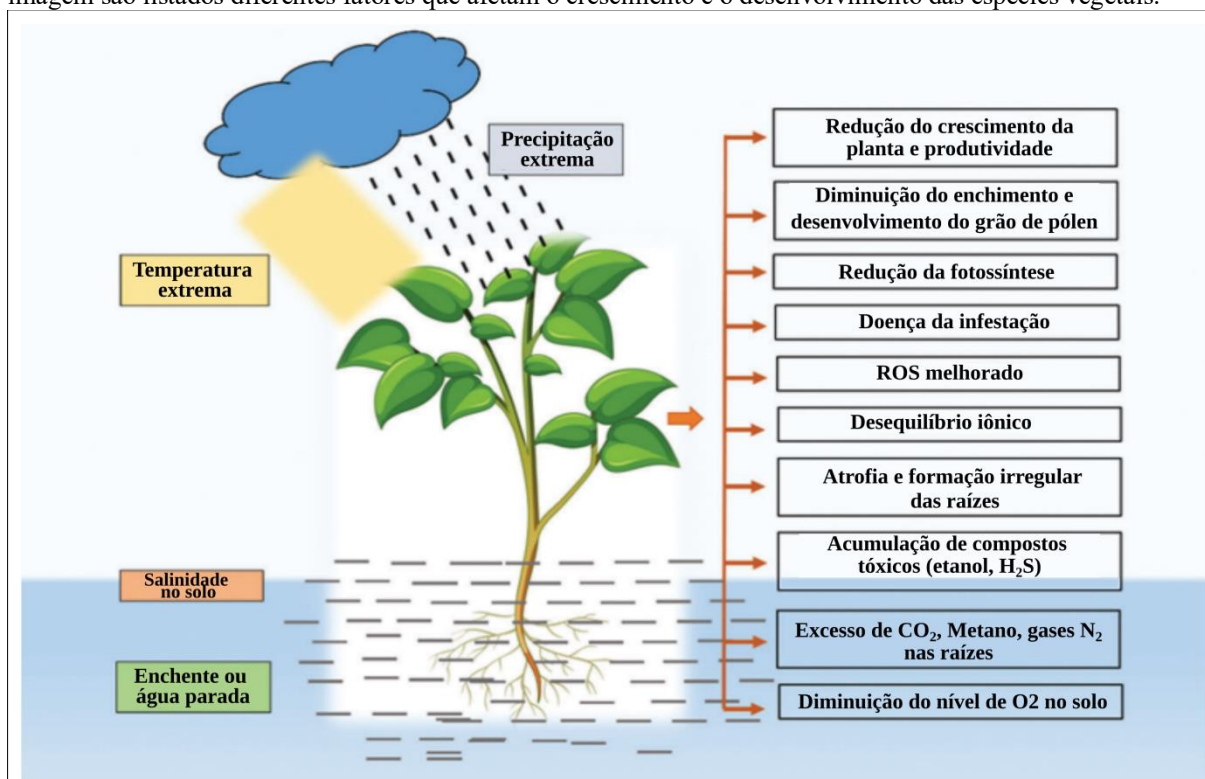
Em relação aos impactos causados pelas modificações da temperatura nas plantas, estudos têm mostrado que a variação na temperatura pode afetar o crescimento e a reprodução das plantas (Rhaman; Ul-Arif; Kibri; Hoque, 2022; Chaudhry; Sidhu, 2022; Raza *et al.*, 2019). Além disso, com o aumento da temperatura e maiores concentrações de CO₂, o mecanismo fotossintético, as trocas gasosas e outros processos de desenvolvimento das plantas são prejudicados (Dong *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2020; Ben Mariem *et al.*, 2021). De acordo com o 6º relatório do IPCC (IPCC-AR6, 2021) a temperatura média anual, na Amazônia, poderá aumentar na faixa de 2°C (cenário de emissão RCP4.5) ou 4°C (cenário de emissão RCP8.5), em comparação com o período 1850–1900. Além disso, o 6º relatório destaca o aumento da intensidade na precipitação no Nordeste Brasileiro, podendo causar inundações pelas chuvas intensas, caso a temperatura venha aumentar em 2°C ou mais.

O aumento das inundações, ocasionado pelas mudanças das condições climáticas, acabam prejudicando de forma negativa o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Kaur *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2020; Bellanthudawa *et al.*, 2023; Ali *et al.*, 2022; Posso; Borella; Reissig; Bacarin, 2018). As enchentes ou umidades excessivas diminuem o nível de oxigênio no solo, o qual acabam impedindo a respiração das raízes e, levando ao acúmulo de compostos tóxicos nas raízes e no solo, como por exemplo, dióxido de carbono, metano, etanol, dentre outros (Armstrong; Drew, 2002; Verma; Singh, 2018; Pezeshki; Delaune, 2012; Liu *et al.*, 2014) (Figura 1.12).

A umidade excessiva no solo pode promover infecções por diversos micro-organismos causadores de doenças nas plantas (Olivares *et al.*, 2021; Browne *et al.*, 2021; Priyadi; Upadhyay, 2021). Por exemplo, Jung *et al.* (2018) relataram sérias infecções, causando até a morte da espécie, causadas pelo gênero *Phytophthora* devido ao encharcamento do solo, inundação ou irrigação em excesso, a qual pode acelerar o processo da doença em diversas espécies de plantas. Recentemente, Olivares *et al.* (2021) também relataram o crescimento de fungos (*Fusarium ooxysporum* f.sp. *Cubense*) em bananeiras (*Musa* spp.), a qual causam a podridão da coroa, devido a umidade excessiva do solo.

Estudos com base nos cenários de mudanças climáticas para a Amazônia, projetados pelos modelos climáticos apresentados pelo IPCC (AR5- IPCC), tem demonstrado que na maior parte da Amazônia ocidental haverá reduções no regime de precipitação e aumento na frequência de eventos extremos, incluindo secas e inundações mais intensas (Cunha *et al.*, 2019; Marengo; Souza Jr, 2018; Marengo; Espinoza, 2016; Marengo *et al.*, 2012; Nobre; Sampaio; Salazar, 2008). Em contrapartida, o 6º relatório do IPCC projeta um aumento da precipitação em diferentes regiões da Amazônia, o que implica no aumento da probabilidade de enchentes e riscos de deslizamentos de terra (IPCC-AR6, 2021). Como resultado da água estagnada, a umidade do solo aumenta e, conseqüentemente, leva ao acúmulo de compostos tóxicos, como sulfeto de hidrogênio e etanol (Pezeshki; Delaune, 2012; Yang *et al.*, 2021), que são compostos relacionados com a redução do crescimento e produtividade das plantas (De Castro; Hill; Stasolla; Badea, 2022; Kaur; Zurweller; Motavalli; Nelson, 2019).

Figura 1.12 – Os possíveis efeitos negativos das variáveis bioclimáticas sobre as plantas. No lado direito da imagem são listados diferentes fatores que afetam o crescimento e o desenvolvimento das espécies vegetais.



Fonte: Adaptado de Rhaman *et al.* (2022).

Os impactos das mudanças climáticas na sobrevivência de espécies de plantas, incluindo plantas medicinais, estão cada vez mais aparentes e compreendidos como um fator que influencia nas distribuições de plantas, fenologia de frutificação e comunidades (Bauman; Smith; Yearsley, 2019; Sharma *et al.*, 2020; Rana *et al.*, 2020). Nesse contexto, estudos têm avaliado o impacto das mudanças climáticas nas populações de plantas medicinais. Agwu *et al.* (2020) avaliaram o impacto do clima no habitat para o cultivo de *Garcinia kola*, uma espécie vulnerável que possui valor econômico, cultural e medicinal na Nigéria. Wu *et al.* (2021) buscaram entender a dinâmica de distribuição de *Lonicera oblata* (Caprifoliaceae), um arbusto criticamente ameaçado da China, em resposta às mudanças climáticas em diferentes períodos.

Estudos têm discutido sobre o impacto das mudanças climáticas em populações de plantas pertencentes a família Rutaceae (Tian; Liu; Sui; Ou, 2022; Mutinda *et al.*, 2022; Yaoitcha *et al.*, 2022; Neal; Barik; Behera; Adhikari, 2022; James; Bayly, 2019), porém, há poucas pesquisas que avaliam, de fato, o impacto da mudança do clima em populações de espécies de *Pilocarpus* Vahl., conhecida como “jaborandi verdadeiro”, fonte original da pilocarpina (Amaral *et al.*, 2022; Caldeira *et al.*, 2017). Em contrapartida, Lima *et al.* (2017) e Amaral *et*

al. (2021) avaliaram os efeitos da temperatura e precipitação na ecofisiologia de *P. microphyllus*, porém não discutem sobre o impacto das mudanças climáticas nas populações da espécie. Silva (2018) relata que todas as populações de *P. microphyllus* poderão ser perdidas, caso a espécie não se adeque as mudanças climáticas, porém de acordo com Zwiener *et al.* (2017) se habitats naturais forem protegidos e restaurados, é possível que espécies consigam manter-se em longo prazo.

1.2. Justificativa e interdisciplinaridade da pesquisa

A justificativa da pesquisa se sustenta pelo fato do jaborandi está sob ameaça de extinção na categoria “Em Perigo” (CNCFlora) e, pelo fato de que nas últimas décadas, a espécie acabou sofrendo redução na disponibilidade de folhas e o desaparecimento da espécie em muitas regiões devido ao intenso desflorestamento e a exploração desenfreada nas suas áreas de ocorrência.

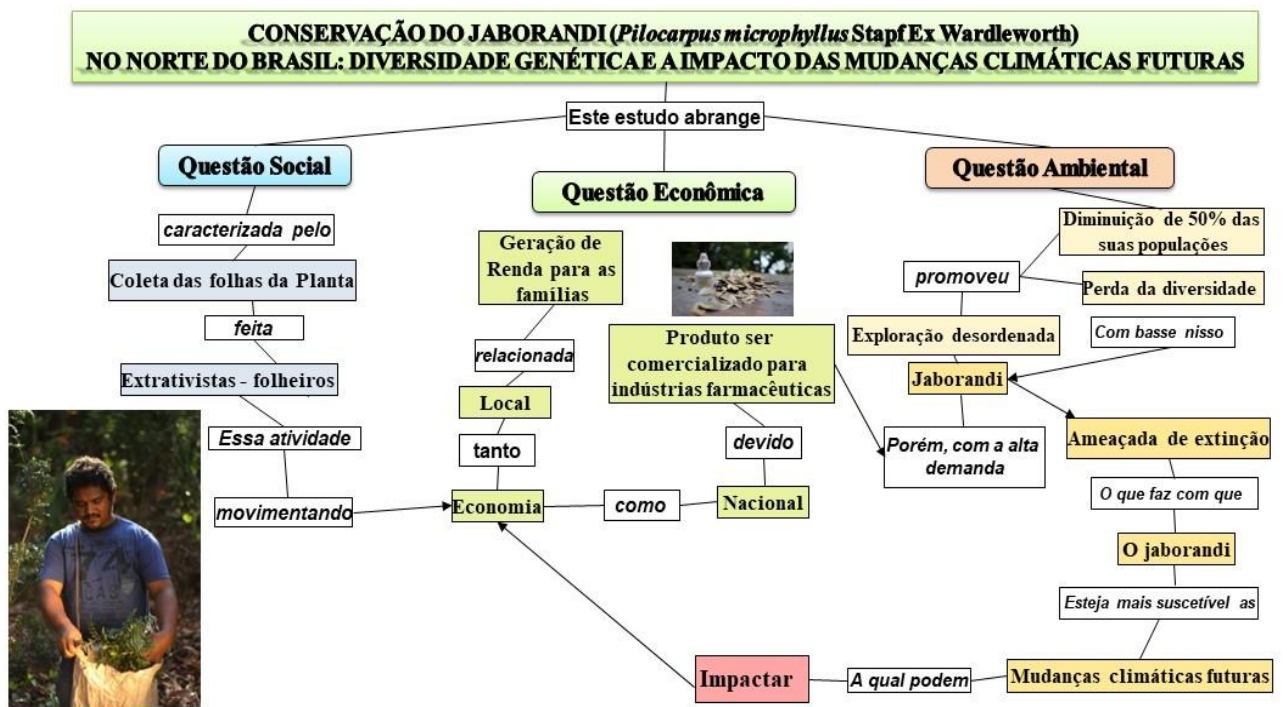
Além disso, *P. microphyllus* possui um alto potencial econômico, social e ambiental, pois a espécie possui um princípio ativo (*pilocarpina*) utilizado como insumo básico na fabricação de colírio para tratamento de glaucoma e prevenção de xerostomia. De acordo com o IBGE o extrativismo das folhas do jaborandi chegou cerca de 291 toneladas no ano de 2021 e, conforme Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica e de Insumos Farmaceuticos a exportação do princípio ativo (*pilocarpina*) rendeu cerca de 9,7 milhões de dólares no ano de 2017.

Atualmente, no norte do Brasil, mais precisamente, na FLONA de Carajás, ocorre o extrativismo do jaborandi, o qual é feito por coletores, conhecidos como “folheiros” que fazem parte de uma Cooperativa (Coex-Carajás). A coleta segue os critérios estipulados no Plano de Manejo do Jaborandi, a qual tem contribuído para a manutenção e exploração sustentável do *P. microphyllus* no sub-bosque da floresta. As folhas extraídas recebem agregação de valor na região, o qual têm contribuído para geração de renda de inúmeras famílias.

Com base nisso, é de suma importância conhecer a diversidade e estrutura genética da espécie, já que no interior da FLONA há o extrativismo sustentável da espécie, a qual é feita pelos folheiros. Além do que, muitos desses têm no extrativismo das folhas e sementes uma fonte de renda. Muitos destes acabam trabalhando no extrativismo para completar a renda

familiar ou, até mesmo, fazem desse trabalho como renda principal para o sustento de suas famílias. Devido a sua importância não só social, mas também econômico e ambiental, por ser uma espécie ameaçada de extinção, buscou-se nessa pesquisa, o entendimento do impacto das mudanças climáticas sob as populações de *P. microphyllus*, visto que essa espécie sofreu vários impactos em suas populações e o entendimento de como as mudanças climáticas podem impactar as populações dessa espécie, como também, podem ajudar a delinear áreas prioritárias para a conservação do jaborandi a longo prazo. Na figura 1.13, é apresentado, sumariamente, o fluxograma interdisciplinar que norteia a Tese.

Figura 1.13 – Fluxograma que sintetiza a interdisciplinaridade da Tese.



1.3 Questões científicas

Assim, com base no que foi apresentado previamente, a presente tese de doutorado expõe os seguintes questionamentos:

- Será que, apesar do extrativismo desordenado, ocasionado no passado e, com o regime atual de manejo utilizado na Flona de Carajás/PA, feito pelos folheiros, o jaborandi têm se mantido com alta diversidade genética na região? Que medidas podem ser tomadas para manter a conservação da espécie a longo prazo e assegurar a atividade extrativista nas próximas décadas?
- Como as mudanças climáticas, projetadas em diferentes cenários futuros, podem impactar as áreas de ocorrência do jaborandi e como essas mudanças podem comprometer à proteção da diversidade da espécie e à renda das famílias envolvidas?

1.4 Hipóteses e Projeções

No Quadro 1.2, são apresentadas as hipóteses e projeções testadas nesta tese. As contestações ou validações das hipóteses são discutidos ao longo dos Capítulos 1 e 2. Nas considerações finais desta pesquisa, as hipóteses serão retomadas, de acordo com os resultados encontrados nesse trabalho.

Quadro 1.2 – Hipóteses e projeções testadas nesta pesquisa.

Hipóteses	Projeções
<p>(A)</p> <p>A coleta excessiva das folhas do jaborandi, praticadas nas últimas décadas, representa um risco a espécie na Flona de Carajás/PA.</p>	<p>Espera-se encontrar baixa diversidade genética e populações geneticamente estruturados, além de, um baixo número mínimo viável para conservação <i>ex situ</i> da espécie.</p>

<p>(B)</p> <p>As mudanças climáticas futuras influenciarão nas áreas de ocorrência do jaborandi.</p>	<p>Haverá diminuição na área de ocorrência do jaborandi, além disso, espera-se que a diminuição do período chuvoso e aumento na temperatura, possa impactar no desenvolvimento e crescimento da espécie, podendo levar a extinção de <i>Pilocarpus mycrophyllus</i>.</p>
--	--

Fonte: Da autora.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo Geral

Avaliar a conservação do jaborandi (*Pilocarpus mycrophyllus* Stapf ex Wardleworth) considerando uma abordagem local e atual (em área protegida da Amazônia oriental) e regional futura decorrente dos impactos das mudanças climáticas nas áreas de ocorrência da espécie sobre o Norte e Nordeste do Brasil.

1.5.2 Objetivos Específicos

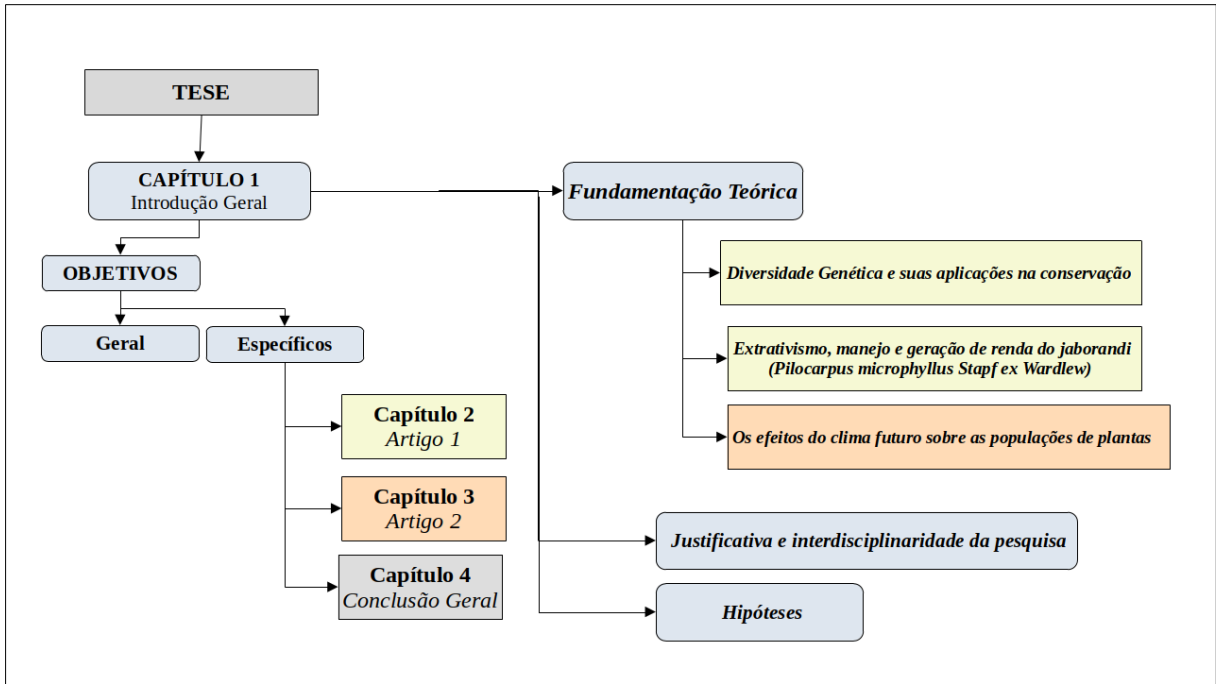
I – Determinar os níveis de variabilidade genética e estrutura populacional em populações naturais do jaborandi dentro de uma Unidade de Conservação (UC) no sudeste do Pará (FLONA Carajás), avaliando os aspectos de conservação e sustentabilidade no contexto da exploração extrativista;

II – Desenvolver um estudo de modelagem ambiental para quantificar os impactos das mudanças climáticas na distribuição potencial das áreas de ocorrência e sobrevivência da espécie *P. mycrophyllus* nos biomas tropicais do Norte e Nordeste do Brasil.

2.1 Estrutura da Tese

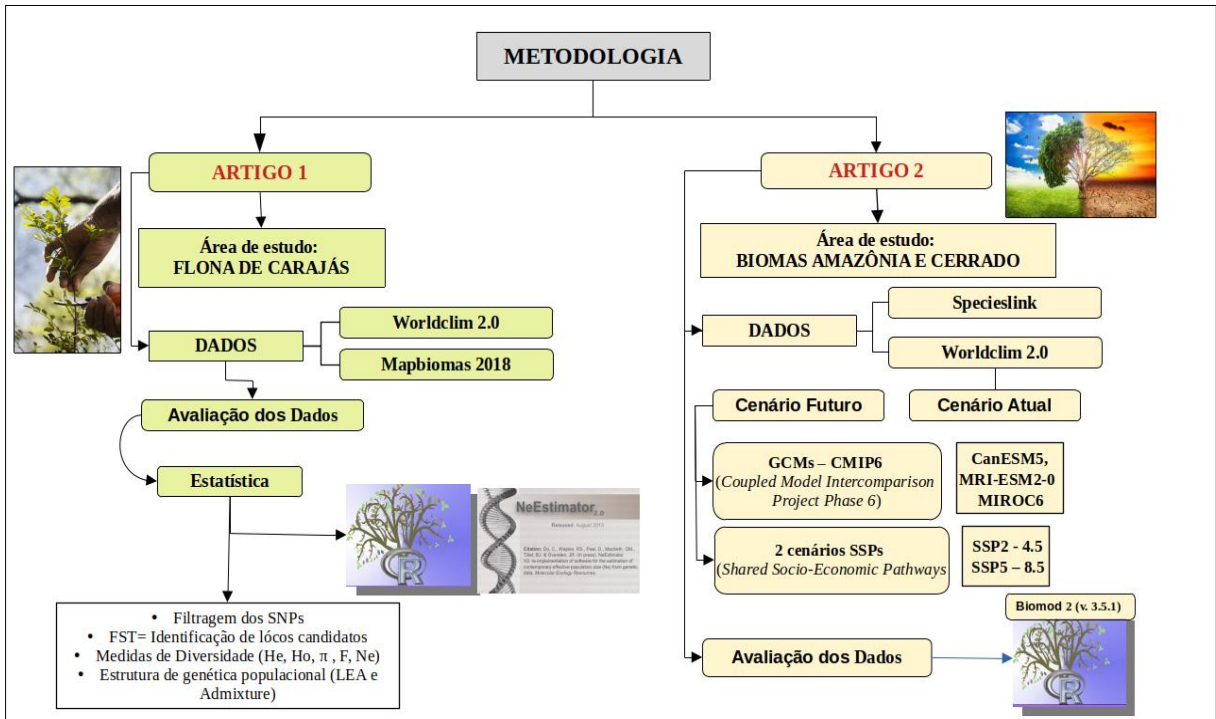
Esta tese está organizada da seguinte forma: O **Capítulo 1** é composto pela introdução geral e o referencial teórico com pontos relevantes sobre o jaborandi no que concerne a diversidade e o efeito do clima futuro. Nesse capítulo, também buscou-se descrever a importância socioeconômica do extrativismo das folhas do jaborandi para a comunidade local na região da FLONA de Carajás. Além disso, é apresentada a justificativa e os objetivos que norteiam os estudos desta tese. No **Capítulo 2** é apresentado o primeiro artigo científico em que foi realizado a análise dos níveis de estrutura e diversidade genética das populações de *P. microphyllus* na FLONA de Carajás. Nesse capítulo, também foi apresentado um número mínimo de indivíduos necessários para criação de um Banco de Germoplasma (BAG). O produto desse capítulo gerou um relatório técnico para uso interno do Instituto Tecnológico Vale e os resultados do mesmo foram essenciais para a coleta de sementes feitas pela COEX-Carajás. O **Capítulo 3** abordará o impacto das mudanças do clima futuro sob os principais biomas onde as populações do jaborandi se encontram e estiveram presentes ao longo do tempo. A partir das análises será possível indicar áreas propícias para a sobrevivência e conservação da espécie. Finalmente, no **Capítulo 4** serão apresentadas as considerações finais da tese, mostrando os resultados mais expressivos, as prioridades para as pesquisas futuras e as considerações finais. Na sequência será apresentado o esquema da estrutura da tese (Figura 1.14) e organograma da metodologia aplicada (Figura 1.15).

Figura 1.14 - Estrutura que sintetiza a tese.



Fonte: Da autora.

Figura 1.15 – Organograma da metodologia que foi utilizada na tese.



Fonte: Da autora.

CAPÍTULO 2 DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA DE *PILOCARPUS MICROPHYLLUS* (RUTACEAE) NA AMAZÔNIA ORIENTAL: IMPLICAÇÕES PARA ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO E MANEJO ¹

Resumo

As plantas medicinais contribuem para o bem-estar das pessoas em grandes partes do mundo, fornecendo remédios tradicionais e gerando renda para muitas famílias. Porém, devido ao desmatamento acelerado e ao extrativismo desordenado, as plantas medicinais estão sendo cada vez mais ameaçadas; por exemplo, o jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), que é uma espécie medicinal com potencial no mercado de medicamentos, teve a sua população reduzida em aproximadamente 50% nos últimos 10 anos. Diante disso, o objetivo desse estudo é compreender como o extrativismo pode influenciar os padrões de diversidade e estrutura genética nas populações de *Pilocarpus microphyllus* na FLONA de Carajás. Utilizando dados genômicos, identificamos um total de 5.266 SNPs neutrais e independentes em 277 indivíduos coletados na FLONA. Além disso, quantificamos a diversidade genética e estimamos um número mínimo de plantas para a criação de um banco ativo de germoplasma (BAG) para espécie. Nossos resultados revelaram alta diversidade genética e quatro agrupamentos espacialmente distintos de *P. microphyllus* com mistura substancial entre eles. Além disso, nossas descobertas indicam que pelo menos 40 matrizes amostradas aleatoriamente de cada população seriam necessárias para conservar a diversidade genética a longo prazo. Em suma, *P. microphyllus* apresentou altos níveis de diversidade genética e um tamanho populacional efetivo (N_E) suficiente para reduzir a probabilidade de extinção devido à depressão endogâmica. Nossos resultados indicam que a diversidade foi mantida apesar da colheita contínua das folhas na área nas últimas décadas. Por fim, os nossos resultados fornecem informações essenciais para a concepção de um banco de germoplasma para proteger as espécies de plantas medicinais ameaçadas de extinção.

Palavras-chave: Extrativismo; SNPs; Conservação; BAG.

¹ Artigo publicado (Qualis A2, Fator de Impacto = 3.09):

Monteiro, W.P. et al. Genetic diversity and structure of an endangered medicinal plant species (*Pilocarpus microphyllus*) in eastern Amazon: implications for conservation. **Conservation Genetics**, v. 23, p. 745–758 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10592-022-01454-6>

Abstract

Medicinal plants contribute to the well-being of people in large parts of the world, providing traditional remedies and generating income for many families. However, due to accelerated deforestation and disordered extractivism, medicinal plants are being increasingly threatened; for example, jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), which is a medicinal species with potential in the drug market, had its population reduced by approximately 50% in the last 10 years. Therefore, the aim of this study is to understand how extractivism can influence the patterns of diversity and genetic structure in populations of *Pilocarpus microphyllus* in FLONA de Carajás. Using genomic data, we identified a total of 5,266 neutral and independent SNPs in 277 individuals collected in FLONA de Carajás. In addition, we quantified the genetic diversity and estimated a minimum number of plants for the creation of an active germplasm bank (AGB) for the species in FLONA. Our results revealed high genetic diversity and four spatially distinct groupings of *P. microphyllus* with substantial mixing among them. Furthermore, our findings indicate that at least 40 randomly sampled matrices from each population would be needed to conserve long-term genetic diversity. In summary, *P. microphyllus* showed high levels of genetic diversity and an effective population size (N_E) sufficient to reduce the probability of extinction due to inbreeding depression. Our results indicate that diversity was maintained despite continuous leaf harvesting in the area in recent decades. Finally, our results provide essential information for designing a germplasm bank to protect endangered medicinal plant species.

Keyword: Extractivism; SNPs; Conservation; AGB.

2.1 Introdução

A degradação e o desmatamento têm levado a mudanças climáticas significativas no mundo. No entanto, há uma preocupação crescente com a Floresta Amazônica, pois ela está desestabilizada devido ao desmatamento acelerado. O aumento do desmatamento intensificou os incêndios, e os impactos já são evidentes em algumas áreas, onde as condições ambientais podem estar próximas de um ponto crítico (Cruz *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021; Lovejoy; Nobre, 2019). A Floresta Amazônica abriga um quarto da biodiversidade global e desempenha um papel crucial na energia, água global e ciclagem de carbono (Brink *et al.*, 2017; Hubau *et al.*, 2020; Pugh *et al.*, 2019). No entanto, devido à conversão da floresta em pastagem, o estoque de carbono pode diminuir e o ciclo hidrológico pode ser alterado, como já foi observado em algumas bacias da região amazônica (Souza-Filho *et al.*, 2016). A diminuição da precipitação, especialmente na estação seca, pode induzir mudanças antrópicas em partes da Amazônia, desde a floresta tropical até a savana (Lovejoy; Nobre, 2019; Nobre; Sampaio; Salazar, 2007).

A mudança no uso da terra é considerada uma das principais causas da perda e degradação florestal. A degradação florestal leva à redução ou perda de habitat, causando perdas importantes na biodiversidade tropical e comprometendo a função e os serviços do ecossistema (Barlow *et al.*, 2016; Foley *et al.*, 2005; Gibson *et al.*, 2011). Essas perdas são ainda maiores em espécies exploradas com extração intensiva, onde não há um plano de manejo eficiente (Homma, 2018; Homma, 2012; Homma, 2008). Espécies de plantas medicinais têm sido exploradas em diferentes biomas ao redor do mundo e pouco tem sido feito para sua conservação, principalmente em países de baixa renda como o Brasil (Dutra *et al.*, 2016; Ricardo *et al.*, 2017), aumentando o número dessas espécies na lista vermelha de espécies ameaçadas (CNCFlora, 2023; IUCN, 2021).

A conservação de plantas medicinais é um importante conteúdo da conservação da biodiversidade (Hamilton, 2004; Kumar; Banks; Cloutier, 2006), e entre os parâmetros básicos empregados para delinear estratégias de conservação está a estimativa da diversidade genética (Hoban *et al.*, 2020a; Hoban *et al.*, 2021; De Woody; Harder; Mathur; Willoughby, 2021; IUCN, 2012). A informação genética é necessária para fomentar estratégias de conservação mais viáveis e é essencial em ambientes que sofrem alterações ambientais e paisagísticas devido às ações antrópicas.

Uma planta medicinal específica se destaca por sua participação na economia local, o jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew.) (Pinheiro, 2002). *Pilocarpus microphyllus* é uma espécie de porte arbustivo pertencente a família Rutaceae e gênero *Pilocarpus*, encontrada, atualmente, nos estados do Maranhão, Pará, Piauí (Martinelli; Moraes, 2013). As folhas de jaborandi contêm o alcaloide imidazólico, denominado *pilocarpina*, utilizado na fabricação de colírios, medicamentos para cirurgias e tratamentos oftalmológicos como glaucoma e xerostomia (Barbosa; Queiroz; Motta, Portes, 2018; Jain; Verma; Jain, 2020; Zur, 2020). As folhas do jaborandi são provenientes do extrativismo realizado pelas comunidades locais, sendo essa atividade umas das formas de possibilitar subsistência, fonte de renda sustentável para as mesmas, além de proporcionar a sobrevivência da espécie no seu habitat natural (Gumier-Costa *et al.*, 2016; Pinheiro, 2002; Homma; Menezes, 2014).

Com a intensa coleta das folhas do jaborandi para a retirada da *pilocarpina*, desde o final do século XIX, algumas regiões detectaram o desaparecimento total da espécie (Grabher, 2015). Diante disso, a partir de 1992, esta espécie foi inserida na lista de plantas brasileiras em perigo por meio da Portaria Normativa IBAMA 37-N, de 3 de abril de 1992 (Homma; Menezes, 2014; Gumier-Costa, 2005) e, conforme os critérios do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA), o *P. microphyllus* continua sob ameaça de extinção na categoria “Em Perigo”. Estes critérios ressaltam a redução do tamanho da população, havendo um declínio na área de ocupação, qualidade do hábitat e no número de populações naturais em aproximadamente 50% nos últimos 10 anos (Martinelli; Moraes, 2013), sendo necessárias ações para sua conservação e uso sustentável.

Atualmente, a FLONA de Carajás, localizada no Estado do Pará, atua como maior reserva natural de *P. microphyllus* do estado (Gumier-Costa, 2012). Dentro da FLONA, o jaborandi ocorre principalmente em associação com a floresta ombrófila densa, muitas vezes em aberturas de clareiras e nas bordas de afloramentos rochosos com cobertura florestal menos densa (Pirani; Devecchi, 2018; Skiryycz *et al.* 2014). No entanto, a Floresta Nacional de Carajás sofre com a intensa pressão de desmatamento causado pelas atividades agropecuárias e pela atividade da mineração (Souza-Filho *et al.*, 2016), o que resulta na perda e a fragmentação do habitat do *P. microphyllus*.

A fragmentação do habitat pode ocasionar a perda da variabilidade genética e isolamento das populações, devido ao: (a) aumento da deriva genética (Young; Boyle; Brown,

1996; Miles *et al.*, 2019); (b) aumento dos níveis de endogamia (Aguilar *et al.*, 2019; Leimu; Vergeer; Angeloni; Ouborg, 2010); (c) redução do fluxo gênico (Stevens *et al.*, 2018; Bennett *et al.*, 2020) e, (d) diminuição no número de polinizadores (Delnevo, *et al.*, 2020; Delnevo Van Etten; Byrne; Stock, 2019; Cristóbal-Pérez; Fuchs; Martén-Rodríguez; Quesada, 2021). Mas, apesar da perda de habitat natural causada pela agricultura e mineração ao redor e dentro da FLONA, a cobertura florestal em seu interior, onde ocorre a maioria das populações, tem sofrido menos pressão (Souza-Filho *et al.*, 2016).

Dentro da FLONA de Carajás, a colheita da folha do jaborandi é realizada por uma cooperativa local (COEX-Carajás) seguindo procedimentos como poda em período determinado (após a dispersão das sementes) e com tesoura adequada; além disso, a rotação de áreas de colheita é praticada para promover a recuperação do dossel (Gracher, 2015; Homma; Menezes, 2014), contribuindo assim para a manutenção das populações naturais ao minimizar a pressão da exploração. Embora não existam dados que corroborem que a colheita de folhas afete negativamente as populações naturais do jaborandi, vários estudos mostram que, mesmo limitando a colheita às folhas, plantas subexploradas podem apresentar crescimento lento, reduzindo as reservas de carbono e nutrientes (Dion; Bussières; Lapoiente, 2016). Estudos sobre diversidade genética podem agregar mais informações se é como a colheita de folhas pode afetar as populações naturais de *P. microphyllus*.

Poucos estudos discutem sobre a diversidade genética da espécie (Moura, 2003; Moura *et al.*, 2005; Sandhu *et al.*, 2006) e, outros são dedicados à fenologia, sistema reprodutivo e a produção da pilocarpina (Abreu *et al.*, 2011; Avancini *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2000). No entanto, esses estudos não avaliaram a distribuição espacial da variação genética em jaborandi nem estimaram outros índices de diversidade genética comumente usados para a conservação da espécie, como tamanho efetivo da população (N_E) e diversidade de nucleotídeos (π). Essa informação genética pode ser essencial para o plano de manejo da espécie (Hoban *et al.* 2020a; Jamieson; Allendorf, 2012), como no desenvolvimento de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* (Flower *et al.* 2018; Griffith *et al.* 2020). Informações genéticas de estudos com espécies silvestres e ameaçadas são de suma importância para subsidiar estratégias de manejo e conservação (Rodger *et al.* 2021; Thomas *et al.* 2021).

Nesse estudo, aplicam-se os dados de SNPs e abordagens genômicas da paisagem para avaliar a diversidade genética das populações jaborandi naturais e fornecer algumas diretrizes

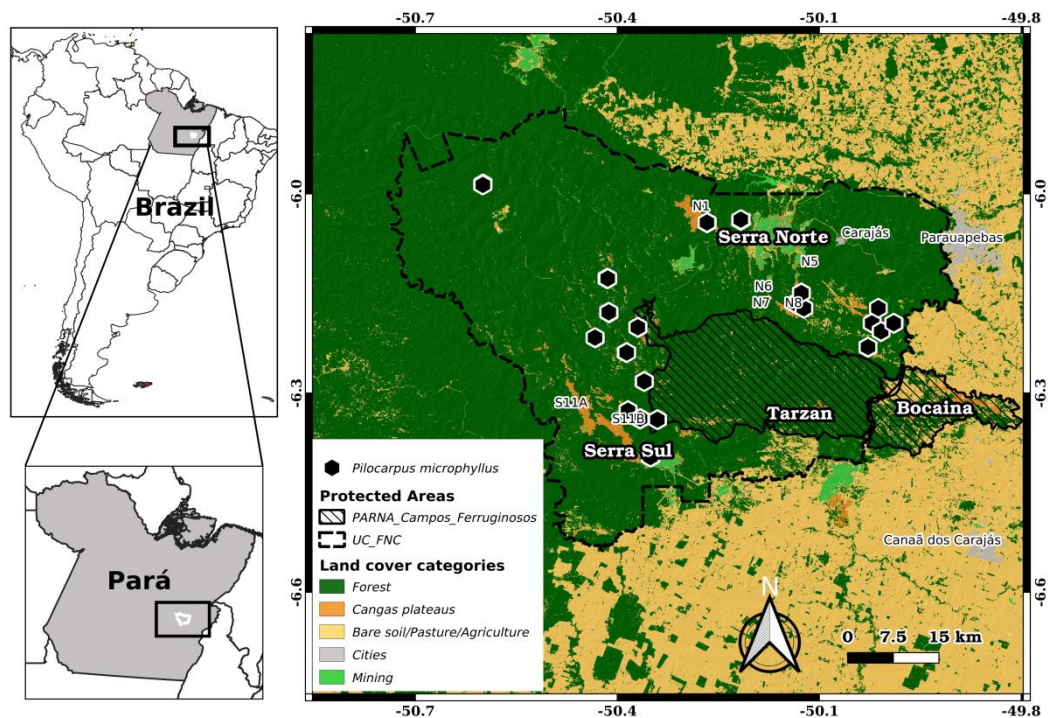
para a sua conservação. No geral, (1) examinam-se os níveis de diversidade genética e estrutura genética das populações de *P. microphyllus* na FLONA, e (2) estima-se o número mínimo de indivíduos necessários para assegurar a conservação da atual diversidade genética e estabelecer um banco de germoplasma na FLONA. Espera-se descobrir que (a) a diversidade genética é elevada, porque a FLONA é uma área protegida nacionalmente onde o jaborandi tem sido explorado de forma sustentável durante décadas; e (b) espera-se encontrar uma marcada estrutura populacional, indicando que o fluxo de genes não é afetado pelo desmatamento, e as modificações da paisagem causadas pela exploração mineral encontrados ao redor da FLONA. Finalmente, este estudo irá melhorar a nossa compreensão da diversidade genética e da estrutura populacional de uma espécie medicinal ameaçada e fornecer a base fundamental necessária para desenvolver e implementar estratégias de conservação.

2.2 Materiais e métodos

2.2.1 Material vegetal

Selecionamos 21 agregados naturais (reboleiras) de indivíduos *P. microphyllus* distribuídos em áreas de floresta ombrófila e áreas próximas de Canga, dentro da FLONA e perto do Parque Nacional de Campos Ferruginosos (PARNA dos Campos Ferruginosos), Amazônia Oriental, Brasil (Figura 2.1). Foram amostrados 20 indivíduos em cada agregado, totalizando 420 espécimes. Todos os indivíduos eram adultos férteis com mais de 1 m de altura e espaçados pelo menos 2 m um do outro. Cada um deles foi rotulado com um selo numerado, georreferenciado, e identificado morfológicamente ao nível da espécie conforme Pirani e Devecchi (2018). A amostragem foi realizada sob o número de licença ICMBio N. 48272-6.

Figura 2.1 - Mapa da região de estudo mostrando a localização das amostras coletadas de *Pilocarpus microphyllus*. Os pontos pretos são as 21 áreas coletadas para amostragem a partir do estudo da diversidade genética natural do jaborandi. As linhas tracejadas pretas representam a Floresta Nacional de Carajás (FLONA de Carajás) e as linhas contínuas pretas o Parque Nacional dos Campos Ferruginosos (PNCF). As coordenadas são apresentadas em graus decimais.



2.2.2 Extração de DNA e estimativa do tamanho do genoma

Para garantir amostras de DNA de alta qualidade e concentração, as folhas jovens foram colhidas em 15 mL de solução saturada de NaCl de brometo de cetrimônio a 2% (CTAB) (Rogstad, 1992) e subsequentemente congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. O DNA genômico foi extraído utilizando o protocolo *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen, EUA), a quantificação do DNA foi realizada utilizando o *Qubit dsDNA HS Assay kit* (Invitrogen) (Invitrogen), e a integridade do DNA foi avaliada utilizando eletroforese em gel (1,2% agarose). Selecionamos 279 amostras com DNA não degradado suficiente para a o sequenciamento RAD com uma concentração final de $5\text{ ng}/\mu\text{L}$ em $30\text{ }\mu\text{L}$ e com um mínimo de cinco indivíduos por agregado. Para estimar o conteúdo de DNA nuclear de *P. microphyllus*, utilizamos citometria de fluxo num citômetro BD FACS Aria II, utilizando salsa (*Petroselinum crispum*; $1\text{C} = 2,25\text{ pg}$) como padrão interno. Tecidos foliares frescos de *P. microphyllus* e o padrão interno foram cortados em pedaços em GPB com 4% Triton X-100 e 4% PVP-30 (Loureiro *et al.*, 2007; Munner *et al.*, 2011) para obter os núcleos. Utilizamos triplicações de pelo menos 1000 núcleos manchados de iodeto de propídio para estimativas com um laser de 488 nm.

2.2.3 Sequenciamento RAD e descoberta dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP)

As amostras de DNA foram sequenciadas e as análises bioinformáticas iniciais (corte e chamada de variantes) foram realizadas pelo SNPsaurus (Institute of Molecular Biology, Eugene, OR, EUA, <http://snpsaurus.com/>). O sequenciamento foi realizado utilizando a metodologia NextRAD (Nextera-fragmentado, DNA amplificado de forma redutora) (Rusello *et al.*, 2015). As bibliotecas genômicas foram sequenciadas usando Nextera DNA Flex Reagent (Illumina, Inc.) num HiSeq 4000 com quatro pistas de 150-bp, e a análise de genotipagem seguiu scripts personalizados (SNPsaurus, LLC), as leituras foram cortadas usando a ferramenta bbduk do software BBDMap (<http://sourceforge.net/projects/bbmap/>): `bbmap/bbduk.sh in = $file out = $outfile ktrim= r k = 17 hdist = 1 mink = 8 ref = bbmap/resources/nextera.fa.gz minlen = 100 ow = t qtrim = r trimq = 10`. Uma referência de novo foi criada coletando 10 milhões de leituras no total, uniformemente das amostras e excluindo leituras que tinham menos contagens de 10 ou mais de 400. Os loci restantes foram então alinhados entre si para identificar alelos e reduzir os haplótipos alélicos a um único representante. Todas as leituras foram mapeadas para a referência com limite de identidade de 90% usando bbmap (ferramentas BBDMap). A chamada do genótipo foi realizada utilizando SAMtools e BCFtools (Samtools mpileup -gu -Q 12 -t DP, DPR -f ref.fasta -b samples.txt | bcftools call -cv -> genotypes.vcf). Alelos com frequências populacionais inferiores a 3% e loci que eram heterozigotos em todas as amostras ou apresentavam mais de dois alelos numa amostra (sugerindo parálogos colapsados) foram removidos. Após esta filtragem prévia, um arquivo VCF (contendo os SNPs identificados em cada indivíduo) e um arquivo FASTA (contendo as sequências de DNA) foram utilizados em todas as análises subsequentes.

2.2.4 Conjunto de dados neutros

Um teste final de controle de qualidade utilizando VCFtools (Daneck *et al.*, 2011) foi implementado no pacote “r2vcftools” em R (<https://github.com/nspope/r2vcftools>) para obter um subconjunto de loci neutros e independentes. Os critérios de filtragem incluíram qualidade (Phred score=30), profundidade de leitura (20-200), frequência de alelos menores (MAF= 0,05), desequilíbrio de ligação (LD, $r^2 < 0,4$), equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE, $p < 0,0001$), e loci e indivíduos com menos de 30% e 50% dos dados faltantes, respectivamente. Além disso, removemos loci que estavam potencialmente sob seleção conforme detectados através de

escaneamentos genômicos. Esta análise foi aplicada após avaliar a estrutura da população com a função *snmf* do pacote “LEA” (Frichot; François, 2015) e controlada para taxas de falsos positivos ajustando os p-valores com o fator de inflação genômica (λ) (http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/LEA/files/LEA_snmf.html) e fixando as taxas de falsos positivos em $q=0,05$ usando o algoritmo Benjamini-Hochberg (François *et al.*, 2016; http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/LEA/files/LEA_snmf.html). Os conjuntos resultantes de loci neutros e independentes foram então utilizados em todas as análises subsequentes.

2.2.5 Diversidade genética e estrutura populacional

Utilizou-se três abordagens de agrupamento genético para avaliar a estrutura da população em R (versão 3.6.3, Team R Core, 2020): i) a função *snmf* do pacote “LEA”, que fornece estimativas das proporções de ancestrais com mínimos quadrados (Frichot; François, 2015); ii) a análise discriminante de componentes principais (DAPC) com o pacote “adegenet”, que identifica e descreve grupos de indivíduos geneticamente relacionados (Jombart *et al.*, 2020); e iii) o pacote “TESS3” (Caye *et al.*, 2016), que calcula estimativas de ancestralidade incorporando informação sobre coordenadas geográficas individuais no seu algoritmo (Martins *et al.*, 2016). Embora o DAPC não se baseie num modelo genético da população subjacente, o TESS3 considera o espaço geográfico. Para *snmf*, dez execuções foram realizadas para cada valor de cluster (K) de 1 a 10, com um burn-in de 200 iterações sob diferentes valores alfa ($\alpha = 10, 100, 500, 1000, 2000, 4000$). O valor ótimo de K foi estimado usando a entropia cruzada mínima (François 2016). No DAPC, também testamos valores de K de 1 a 10, inferindo o número ideal a partir do menor valor do critério de informação bayesiano (BIC). No TESS3, assumiu-se K de 1 a 10 com 5 repetições para cada valor de K, com uma máscara de 0,05 e diferentes valores de lambda (0, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5), escolhendo o valor de lambda mais provável com base em o valor mínimo de validação cruzada e o melhor valor de K após a primeira quebra de linha de tendência, conforme indicado por Caye *et al.* (2016). Testou-se de 1 a 10 populações ancestrais (k) de acordo com estudos genômicos populacionais anteriores em outras espécies de plantas (Carvalho *et al.* 2019; Lanes *et al.* 2018; Silva *et al.* 2020). Além dessas abordagens, utilizou-se a análise dos componentes principais (PCA) (Reich; Price;

Patterson, 2008; Patterson; Price; Reich, 2006) onde foram usados os pacotes *adegenet* e função *dudi.pca* (Jombart *et al.*, 2023) no programa R.

Considerando os coeficientes de ascendência atribuídos pelo *snmf*, calculou-se a heterozigosidade esperada (H_E), a diversidade de nucleótidos (π : diversidade média por local de nucleótidos), e o coeficiente de consanguinidade (F_{IS}) para cada aglomerado genético. Estes índices foram calculados usando a opção "het" no VCFtools (Danecek *et al.*, 2011). Adicionalmente, estimou-se o Tajima'D, representando a diferença entre o número médio de diferenças em pares e o número de sítios segregadores. Também foi calculado o F_{ST} em pares utilizando o pacote "DARTR" (Gruber *et al.*, 2018). Nesse estudo, utilizou-se o *software* R (versão 3.6.3, R Core Team, 2020) para todas as análises de dados estatísticos, exceto a estimativa da dimensão efetiva da população (N_E), que foi calculada pelo software NeEstimator 2.1, utilizando a abordagem LD e com o valor mais baixo de frequência de alelos fixado em 0,05 (Do *et al.*, 2014).

2.2.6 Tamanho mínimo da amostra para a conservação da diversidade genética do jaborandi

Utilizou-se a metodologia proposta por Hoban *et al.* (2020b) para estimar o número mínimo de indivíduos para manter num banco de germoplasma que represente a diversidade genética de *P. microphyllus* da FLONA. Foi utilizado dados genéticos de populações naturais *in situ* e fez-se uma nova amostragem computacional deste conjunto de dados, sem substituição, para diferentes números de indivíduos. Realizamos estas análises a dois níveis: i) a nível populacional, considerando cada aglomerado genético encontrado nas análises da estrutura genética como uma população isolada; e ii) considerando todos os indivíduos em conjunto, uma vez que as análises da estrutura genética mostraram um elevado fluxo genético entre os aglomerados genéticos de *P. microphyllus*. Para cada nova reamostragem, foi desenhado um número diferente de indivíduos para criar conjuntos de dados pseudo-observados, representando os diferentes tamanhos de amostra que poderiam ser utilizados para a implementação de bancos de germoplasma. Em populações com tamanhos de amostra inferiores a 100 indivíduos, foram testadas amostras em intervalos de cinco indivíduos; para populações maiores, foram testadas amostras em intervalos de 10 indivíduos. Para cada um destes conjuntos de dados, foi feito o cálculo da heterozigosidade esperada (H_E) como medida

da diversidade genética (Smith *et al.*, 2020), estimada com a função H_s no pacote “adegenet”. Para avaliar a relação entre a dimensão potencial da coleção *ex situ* e a diversidade genética capturada, a heterozigiosidade esperada foi comparada com o valor da população natural *in situ*, empregando a função $hs.test$ com a adegenet. Para cada reamostragem, repetiu-se a seleção de indivíduos e a estimativa H_E 100 vezes (réplicas) usando a técnica bootstrap. Estas análises foram realizadas com scripts R personalizados (disponíveis em https://github.com/jdalapicolla/BAG_SNPs).

2.3 Resultados

2.3.1 Estrutura populacional e diversidade genética

Os 279 indivíduos jaborandi sequenciados geraram um total de 36.672 SNPs. Após filtragem por qualidade, cobertura, dados faltantes, LD, HWE e F_{ST} outliers, obtivemos um subconjunto com 277 indivíduos e 5.266 SNPs neutros e independentes. As três abordagens de agrupamento genético utilizadas para avaliar a estrutura da população (*snmf*, DAPC, TESS3) revelaram quatro agrupamentos genéticos em jaborandi em toda a FLONA (Figura 2.2 e 2.3). Por meio da PCA percebeu-se também a formação de quatro subgrupos no conjunto de dados, isto é, a variabilidade genética existente entre as populações foi ordenada em quatro grupos distintos, corroborando com os resultados obtidos pelas outras metodologias utilizadas (Figura 2.4). A diferenciação genética (F_{ST}) variou de 0,052 a 0,106, sendo mais elevada entre os aglomerados A e B (Tabela 2.1). Os valores esperados da heterozigiosidade (H_E) e diversidade de nucleótidos (π) foram semelhantes em todos os Clusters, enquanto que o coeficiente de consanguinidade (F_{IS}) foi positivo e significativo no Cluster D e negativo e significativo no Cluster C, o qual possui o maior tamanho populacional efetivo (N_E) (Tabela 2.2). Os Clusters B e D apresentaram valores de Tajima’s D negativos, indicativo da expansão da população após um recente *bottleneck*, e os Clusters A e C exibiram intervalos de confiança que incluíam o valor zero, indicando estabilidade na dimensão da população (Tabela 2.2).

Figura 2.2 - Número ideal de agrupamentos genéticos (K) para *Pilocarpus microphyllus* com base na (a) entropia cruzada (LEA), (b) erros de validação cruzada (TESS3) e, (c) valor BIC (DAPC).

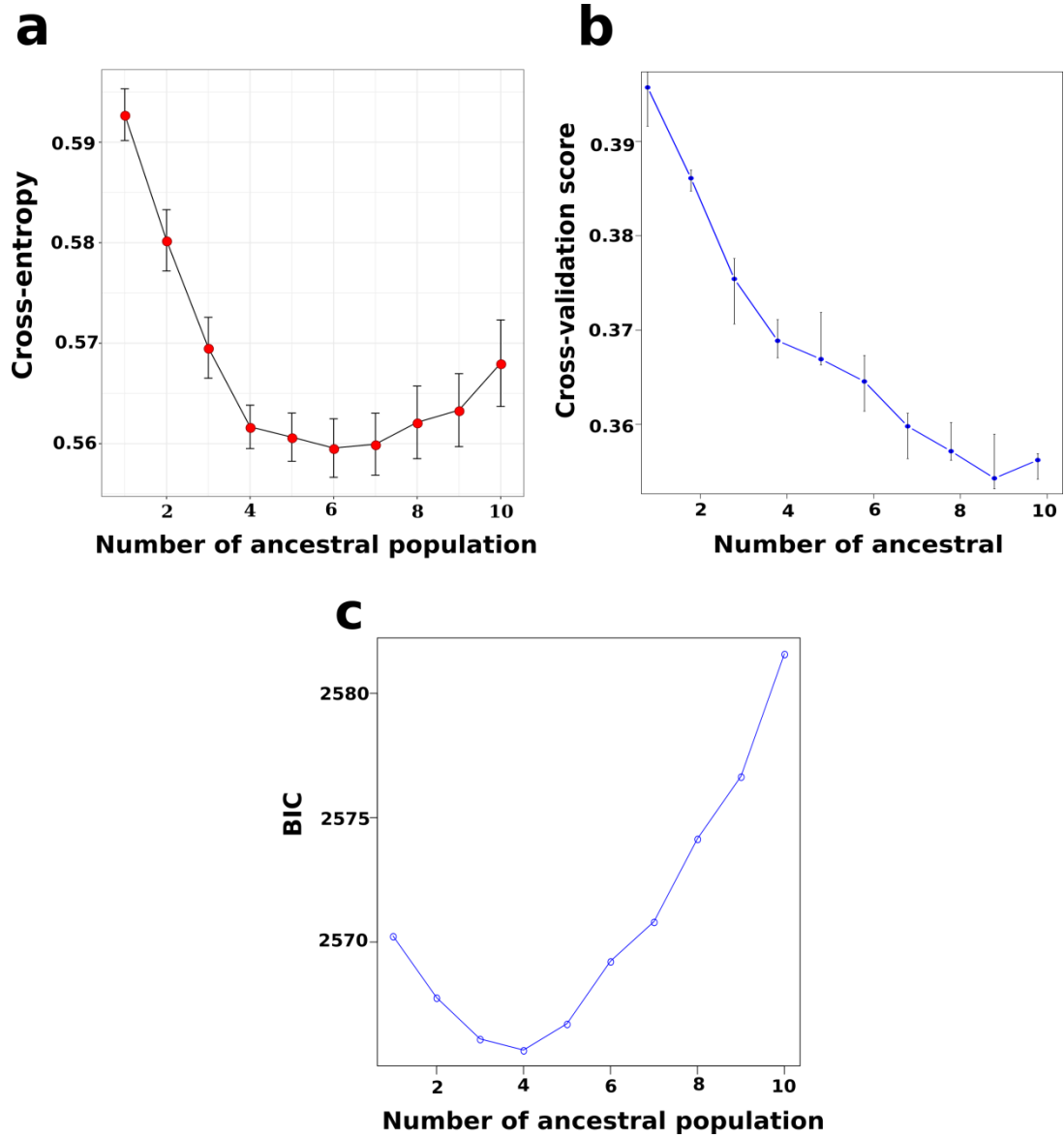


Figura 2.3 – (a) Mapa da região de estudo mostrando a localização das amostras coletadas de *Pilocarpus microphyllus*. Os pontos numerados representam os 21 agregados naturais onde foram amostrados indivíduos de jaborandi. As linhas tracejadas pretas representam a Floresta Nacional de Carajás e as linhas contínuas pretas o PARNA dos Campos Ferruginosos. As cores dos pontos correspondem aos quatro grupos genéticos (A, B, C e D) identificados pelas análises *snmf*. As coordenadas são apresentadas em graus decimais. (b) Coeficientes de ancestralidade obtidos da função *snmf* do pacote R “LEA”. Os indivíduos são representados em cada coluna e as linhas pretas os separam em 21 agregados (Mapa de uso da terra para o ano de 2018, fonte: <http://mapbiomas.org>).

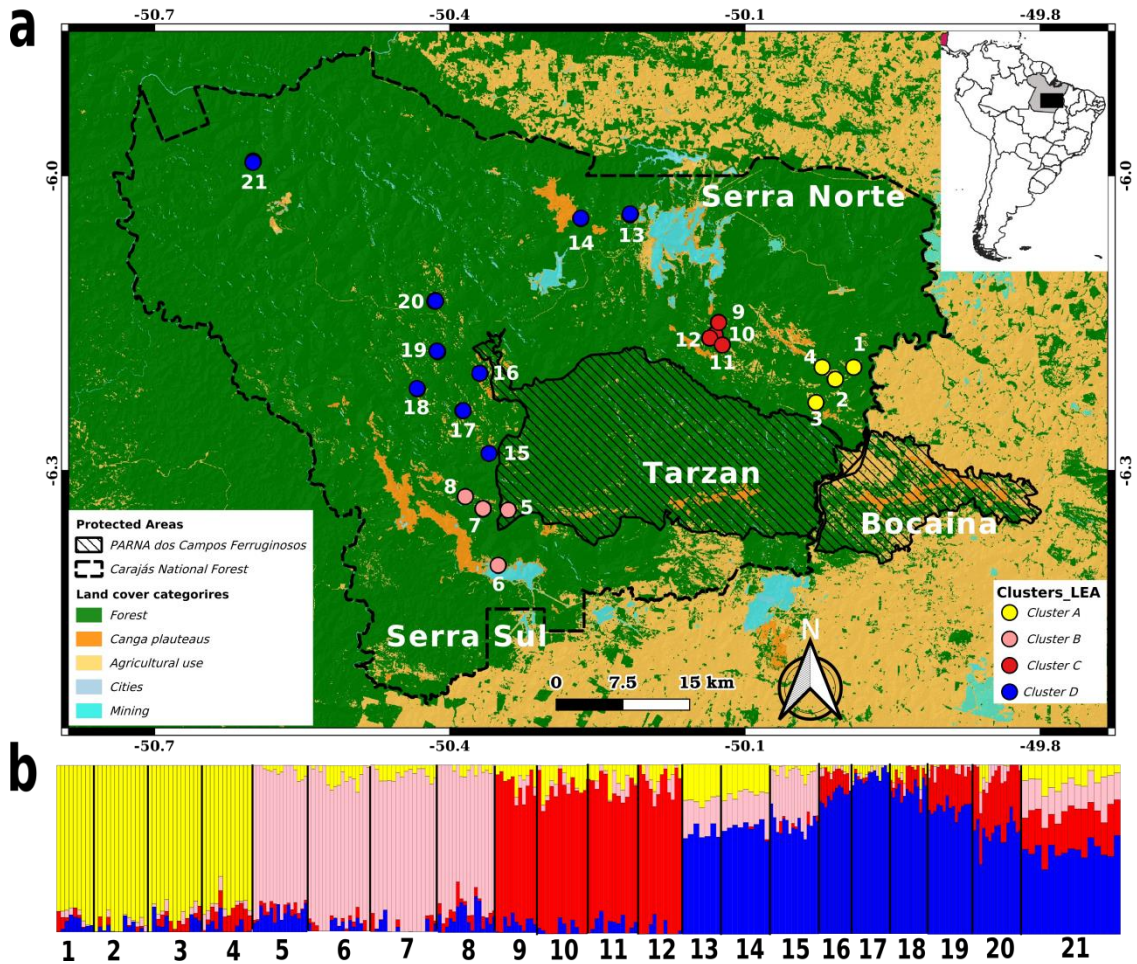


Figura 2.4 – Análise de Componentes Principais (PCA) para os 277 indivíduos de *Pilocarpus microphyllus* com o conjunto de 5.268 SNPs indicando a formação de quatro *clusters*.

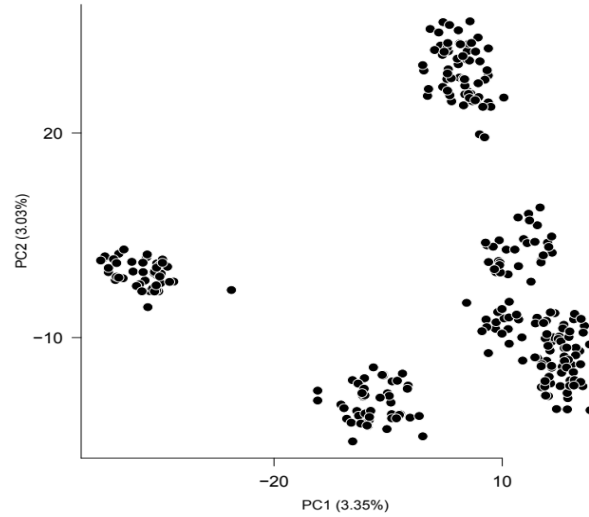


Tabela 2.1 - Índice de diferenciação genética entre clusters (F_{ST}) de *Pilocarpus microphyllus*. Os valores mais altos e mais baixos de F_{ST} entre os clusters são destacados (negrito).

	Cluster A	Cluster B	Cluster C
Cluster A			
Cluster B	0.106		
Cluster C	0.091	0.088	
Cluster D	0.090	0.056	0.052

Tabela 2.2 - Medidas de diversidade genética para os clusters genéticos neutros identificados de *Pilocarpus microphyllus* na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. O número de indivíduos amostrados (N), seguido da heterozigosidade média esperada (H_E), coeficiente de endogamia (F_{IS}), estimativa de polimorfismo de nucleotídeos (π), Tajima's D e tamanho efetivo da população (N_E). Todas as estimativas são mostradas com seus intervalos de confiança de 95% (ICs). Os valores em negrito representam valores significativos para F_{IS} e Tajima's D.

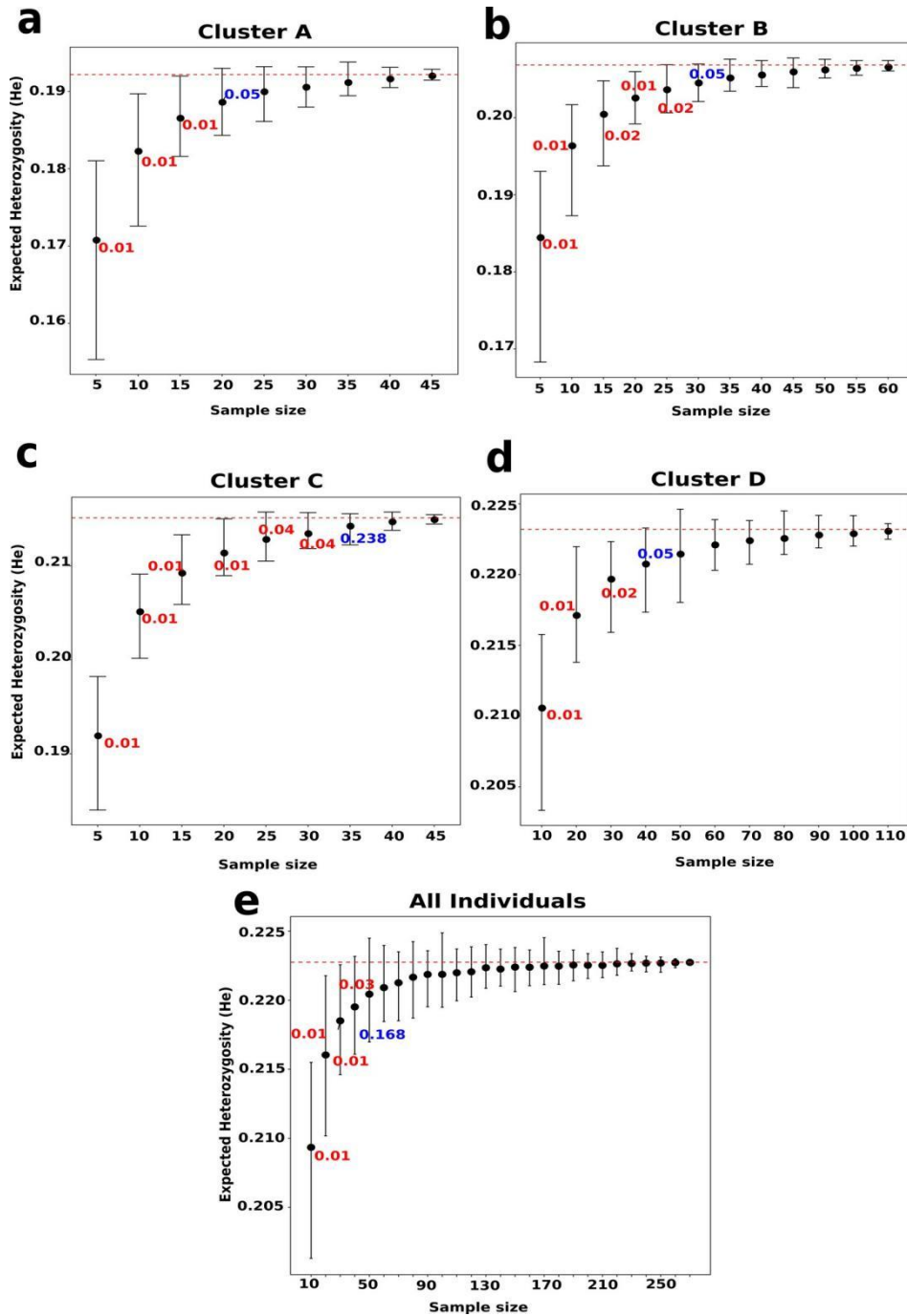
Clusters Genéticos	N	H_E [CI]	F_{IS} [CI]	π [CI]	Tajima's D	N_E [CI]
Cluster A	47	0.24 [0.24/0.24]	0.02 [-0.008/0.05]	0.21 [0.20/0.21]	-0.02 [-0.05/0.09]	93.4 [92.3/94.5]
Cluster B	65	0.23 [0.23/0.23]	0.002 [-0.01/0.02]	0.22 [0.22/0.22]	-0.21 [-0.24/-0.10]	106.7 [105.9/107.5]
Cluster C	47	0.24 [0.24/0.25]	-0.02 [-0.04/-0.00]	0.23 [0.22/0.23]	-0.05 [-0.10/0.05]	252.7 [246.8/258.9]
Cluster D	118	0.24 [0.24/0.24]	0.06 [0.05/0.08]	0.24 [0.24/0.24]	-0.34 [-0.38/-0.23]	92.2 [91.8/92.5]

2.3.2 Tamanho mínimo da amostra para a conservação da diversidade genética do Jaborandi

Os resultados das simulações de H_E para reamostras com diferentes tamanhos amostrais mostraram o mesmo padrão para todos os Clusters e para a análise considerando todos os indivíduos juntos. Este padrão foi muito semelhante a uma curva de acumulação de espécies em que uma curva aumenta até um platô, e a diversidade genética e sua variância diminuem com o aumento do tamanho da amostra (Figura 2.5). Este padrão indica que temos amostras suficientes para realizar esta abordagem de reamostragem no nosso conjunto de dados.

A diversidade genética para os conjuntos de dados reamostrados atingiu valores semelhantes ao do conjunto de dados original, ou seja, a diversidade genética atual estimada, quando valores de $p \geq 0,05$ (Figura 2.5). A correspondência da diversidade genética entre os conjuntos de dados reamostrados e originais ocorreu em diferentes tamanhos de amostra para cada cluster genético: 20 indivíduos para o Cluster A (Figura 2.5a), 30 indivíduos para o Cluster B (Figura 2.5b), 35 para o Cluster C (Figura 2.5c), e 40 para o Cluster D (Figura 2.5d). Considerando todos os indivíduos, a diversidade genética foi semelhante à do conjunto de dados original quando selecionamos aleatoriamente 50 indivíduos (Figura 2.5e).

Figura 2.5 - Simulação populacional dos quatro clusters genéticos de *Pilocarpus microphyllus* na Floresta Nacional de Carajás, mostrando que a atual diversidade genética real estimada (HE) é capturada por 20 indivíduos amostrados do Cluster A (A), 30 indivíduos do Cluster B (B), 35 do Cluster C (C), 40 do Cluster D (D) ou 50 de todas as amostras (E). Os pontos representam as médias de 100 replicações de bootstrap para cada tamanho de amostra e as barras de erro mostram os intervalos de confiança de 95%.



2.4 Discussão

Apesar da intensa colheita de folhas durante as últimas décadas, o nosso estudo revela uma elevada diversidade genética em *P. microphyllus* na FLONA, agrupados em quatro grupos. Especificamente, os resultados das simulações H_E sugeriram que o tamanho mínimo da amostra para estabelecer um banco de germoplasma é de 40 indivíduos de cada cluster genético ou 50 matrizes distribuídas entre todos os clusters. Abaixo, discute-se os principais resultados, mostrando como estas informações derivadas de todas as análises podem ajudar a orientar os esforços de conservação para as populações de jaborandi.

2.4.1 Estrutura genética e diversidade

Os resultados da estrutura populacional revelaram quatro grupos genéticos de *P. microphyllus* com altos níveis de diversidade dentro da FLONA. A manutenção de elevados níveis de diversidade genética, apesar da sobre-exploração fora da FLONA (Caldeira *et al.*, 2017; Martinelli; Moraes, 2013), sugere que as populações de jaborandi podem ser capazes de superar essa pressão e manter o fluxo de genes nesta área. A elevada diferenciação genética (ou seja, elevado valor F_{ST}) detectada entre clusters distantes, por exemplo, entre Cluster A e B (Figura 2.3a), sugere que a distância geográfica pode explicar os padrões de estrutura genética encontrados neste estudo. Contudo, alguns clusters do jaborandi compartilham menos alelos com os que estão geograficamente mais próximos do que com os distantes (Figura 2.3a, 2.3b), outros fatores podem estar conduzindo a estrutura populacional de *P. microphyllus*. A atividade humana na área pode ser um destes fatores. Uma vez que as pessoas podem atuar como vetores de dispersão, aumentando assim a probabilidade de dispersão de sementes pela paisagem, têm uma influência importante na estrutura genética, tal como relatado em vários estudos (Albrecht *et al.*, 2012; Baba *et al.*, 2015; Nathan *et al.*, 2008; Wichmann *et al.*, 2009).

A diversidade genética observada para *P. microphyllus* foi superior aos níveis observados para outras espécies nativas da família Rutaceae (Garcia-Lor *et al.*, 2013), bem como para outras espécies da FLONA (Lanes *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020). Também encontramos uma consanguinidade ligeiramente positiva no Cluster D. Este resultado pode estar relacionado com o sistema reprodutivo de *P. microphyllus*, que tem flores hermafroditas (Pirani; Devecchi, 2018), permitindo que a auto-polinização ocorra. O F_{IS} positivo encontrado para *P. microphyllus* era semelhante ou superior ao encontrado para *Phellodendron amurense*

(Rutaceae), uma planta medicinal nativa da China em perigo de extinção (Yang *et al.*, 2016). No entanto, este estudo utilizou microssatélites para obter os valores do coeficiente de consanguinidade, que não são diretamente comparáveis com as nossas estimativas. Além disso, o Cluster C mostrou consanguinidade significativamente negativa, refletindo um nível mais elevado de heterozigosidade do que o esperado sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Cornuet; Luikart, 1996). Valores acima de 0,1 podem indicar a presença de depressão consanguínea em populações e aumento do acasalamento entre parentes (Frankham, 2019), mas não foi observado para as populações jaborandi.

Os resultados do Tajima's D mostraram valores não diferentes de zero nas populações orientais (Clusters A e C, Tabela 2), indicando que estas populações seguem o modelo de mutação neutra em que os tamanhos das populações tendem a permanecer constantes ao longo do tempo (Tajima, 1989). Observamos valores de Tajima's D nos outros dois clusters (B e D), sugerindo uma possível expansão populacional recente após um *bottleneck* (Fu, 1997; Tajima, 1989). Apesar da coleta contínua de folhas na área durante as últimas décadas, não encontramos provas de redução da diversidade genética nas populações dentro da FLONA. No entanto, são necessários estudos demográficos ao longo do tempo para compreender eficazmente esta dinâmica. Além disso, foi encontrado um efetivo tamanho populacional (N_E) < 100 nos Clusters A e D. Contudo, quando comparado com outra espécie da região, *Brasilianthus carajensis* Almeda & Michelangeli (Melastomataceae), o valor estimado para o jaborandi foi mais elevado (Silva *et al.*, 2020). Os clusters B e C exibiram os maiores tamanhos efetivos de população, entre 100-250. Comparando o tamanho efetivo da população de outra rutaceous espécie (*Philotheca sporadica*; Shapcott *et al.*, 2015), observamos que o N_E para esta espécie era semelhante ou superior aos valores observados para as populações de *P. microphyllus*. Embora tenham sido observados valores de N_E mais elevados, os autores também utilizaram microssatélites, pelo que os seus resultados não são diretamente comparáveis aos nossos resultados. Embora os valores de N_E para as populações de jaborandi estejam abaixo dos valores recomendados ($N_E > 500$) para manter o potencial evolutivo a longo prazo (Frankham; Bradshaw; Brook, 2014), Jamieson; Allendorf (2012) sugeriram um N_E igual a 50 para conservação a curto e médio prazo e para evitar a consanguinidade e a perda de alelos raros.

2.4.2 Implementação de banco de germoplasma

Os resultados das simulações de H_E revelaram que é necessário um tamanho mínimo de amostra de 40 matrizes de cada cluster ou 50 matrizes recolhidas aleatoriamente de todos os clusters existentes para representar a nossa recente estimada de diversidade genética (H_E) de *P. microphyllus* na FLONA. O número mínimo de acessos encontrados para esta espécie é consistente com números semelhantes sugeridos por outros estudos: entre 30-60 para espécies de culturas (Marshall; Brown, 1975), 40-80 para populações de plantas virtuais estruturadas em quatro grupos (Hoban, 2019), e entre 30-200 para 11 espécies de cinco géneros diferentes de angiospermas (Hoban *et al.*, 2020b). Alternativamente, Lawrence; Marshal; Davies (1995) sugeriram a amostragem de aproximadamente 170 indivíduos de uma espécie alvo para considerar a população total. Apesar dos valores, encontrados nesse estudo, estarem de acordo com os relatados pelos estudos acima mencionados, análises anteriores (Hoban; Strand, 2015; Kashimshetty; Pelikan; Rogstad, 2017) sugeriram aumentar o número de coleções de sementes em cerca do dobro do número. Isto é importante porque nem todas as sementes recolhidas irão germinar, e as plantas vivas podem sofrer danos, senescência e doenças (Griffith *et al.*, 2017; Guerrant; Havens; Vitt, 2014).

Vários estudos demonstraram que a amostragem de menos sementes por planta e incluindo um maior número de plantas parentais captura mais diversidade genética do que a recolha de múltiplas sementes de alguns parentais (Hoban; Kallow; Trivedi, 2018; Hoban; Schlarbaum, 2014; Hoban; Strand, 2015). Em geral, a coleção de sementes ideal recomendada para a conservação a longo prazo depende da espécie. Por exemplo, Hoban; Strand (2015) propuseram recolher aproximadamente 300 sementes (10 sementes de cada uma de 30 plantas maternas) de plantas que apresentam dispersão a longa distância. Way (2003) sugeriu a recolha de pelo menos 10.000 sementes potencialmente viáveis de populações de plantas não domesticadas. Apesar das espécies de *Pilocarpus* produzirem um maior número de sementes, estas apresentam baixa germinação após armazenamento por longos períodos (Calil *et al.*, 2008). Por conseguinte, com base nos resultados obtidos, sugere-se a implementação de um banco de germoplasma ativo e não de um banco de sementes. Considerando toda esta informação, a amostragem deve incluir pelo menos 40 matrizes dentro de cada população de jaborandi com sementes de cada planta individual mantida separadamente.

2.6 Conclusões

Este é o primeiro estudo que utiliza SNPs para avaliar a diversidade genética e a estrutura das populações de *P. microphyllus* numa área dedicada à conservação e utilização sustentável. Neste estudo, pôde-se observar que *P. microphyllus* está estruturada em quatro clusters (populações) genéticos. Apesar da coleta comercial de folhas na área nas últimas décadas, os resultados fornecem provas de diversidade genética em *P. microphyllus* semelhantes aos níveis observados em outras espécies nativas. As observações de baixa consanguinidade e um efetivo tamanho populacional (N_E) acima do limiar de 50 também não indicam qualquer sinal de perda de diversidade nesta espécie dentro dos limites da FLONA. Para assegurar a conservação da diversidade genética, sugere-se o estabelecimento de um banco de germoplasma com indivíduos propagados de pelo menos 40 progenitores (matrizes) dentro de cada uma das quatro populações de *P. microphyllus*. Finalmente, estes resultados fornecem informação sólida que é de extrema importância para desenvolver estratégias de conservação e servem de base para delinear e construir um banco de germoplasma para esta planta medicinal ameaçada.

Referências

- ABREU, I.N. *et al.* Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, v.77, n.3, p. 293–300, 2011.
- AGUILAR, R. *et al.* Habitat fragmentation reduces plant progeny quality: a global synthesis. **Ecology Letters**, v. 22, n. 7, p. 1163-1173, 2019.
- ALBRECHT, E. *et al.* Genetic diversity in *Capsicum baccatum* significantly influenced by its ecogeographical distribution. **BMC Genetics**, v. 13, n. 1, p. 1-15, 2012.
- ARMENTERAS, D.; MORALES, M. A Amazônia Hoje. **Perspectivas do Meio Ambiente na Amazônia (GeoAmazônia)**, p. 109-193, 2008.
- AVANCINI, G. *et al.* Induction of pilocarpine formation in jaborandi leaves by salicylic acid and methyljasmonate. **Phytochemistry**, v. 63, n. 2, p. 171-175, 2003.
- BABA, V. Y. *et al.* Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions based on fruit morphological characterization and AFLP markers. **Genetic resources and crop evolution**, v. 63, p. 1371-1381, 2016.
- BANNITZ, F. *et al.* **Diagnóstico da cooperativa dos extrativistas da Flona de Carajás – COEX-CARAJÁS**. [Carajás]: Instituto de Sócio Economia Solidária, 2015.
- BARLOW, J. *et al.* Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 144-147, 2016.

- BARBOSA, A. C.; QUEIROZ, R. S., MOTTA, M. M. D. S.; PORTES, A. J. F. Pseudophakic Vision with residual ametropia after pilocarpine 2% instillation. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 77, p. 349-352, 2018.
- BENNETT, J. M. *et al.* Land use and pollinator dependency drives global patterns of pollen limitation in the Anthropocene. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 3999, 2020.
- BRACK, D. Sustainable consumption and production of forest products. *In: UNITED NATIONS FORUM ON FORESTS*, 2018. **Proceedings[...]**. https://static.un.org/esa/forests/wp-content/uploads/2018/04/UNFF13_BkgdStudy_ForestsSCP.pdf.
- BRINCK, K. *et al.* High resolution analysis of tropical forest fragmentation and its impact on the global carbon cycle. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 14855, 2017.
- CALDEIRA, C.F. *et al.* Sustainability of Jaborandi in the eastern Brazilian Amazon. **Perspectives in Ecology and Conservation**, 15(3), 161–171, 2017.
- CALIL, A. C. *et al.* Viabilidade de sementes armazenadas de frutos imaturos de jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius* Lem.-RUTACEAE). **Pesquisa Agropecuaria Gaucha**, v. 14, n. 1, p. 63-66, 2008.
- CARVALHO, C. S. *et al.* Habitat loss does not always entail negative genetic consequences. **Frontiers in Genetics**, v. 10, p. 1011, 2019.
- CAYE, K. *et al.* TESS3: fast inference of spatial population structure and genome scans for selection. **Molecular Ecology Resources**, v. 16, n. 2, p. 540-548, 2016.
- CNCFlora. 2023. *Pilocarpus microphyllus* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pilocarpus microphyllus](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pilocarpus%20microphyllus). Acessado em 22 de abril de 2023.
- CORNUET, J. M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v. 144, n. 4, p. 2001-2014, 1996.
- CRISTÓBAL-PÉREZ, E. J.; FUCHS, E.J., MARTÉN-RODRÍGUEZ, S., QUESADA, M. Habitat fragmentation negatively affects effective gene flow via pollen, and male and female fitness in the dioecious tree, *Spondias purpurea* (Anacardiaceae). **Biological Conservation**, v. 256, p. 109007, 2021.
- CRUZ, D. C. da. *et al.* An overview of forest loss and restoration in the Brazilian Amazon. **New Forests**, v. 52, p. 1-16, 2021.
- DANECEK, P. *et al.* The variant call format and VCFtools. **Bioinformatics**, v. 27, n. 15, p. 2156-2158, 2011.
- DELNEVO, N. *et al.* Habitat fragmentation restricts insect pollinators and pollen quality in a threatened Proteaceae species. **Biological Conservation**, v. 252, p. 108824, 2020.
- DELNEVO, N.; VAN ETTEN, E. J.; BYRNE, M.; STOCK, W. D. Floral display and habitat fragmentation: effects on the reproductive success of the threatened mass-flowering

Conospermum undulatum (Proteaceae). **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 19, p. 11494-11503, 2019.

DEWOODY, J. A.; HARDER, A. M., MATHUR, S.; WILLOUGHBY, J. R. The long-standing significance of genetic diversity in conservation. **Molecular Ecology**, v. 30, n. 17, p. 4147-4154, 2021.

DION, Pierre-Paul; BUSSIÈRES, J.; LAPOINTE, L. Sustainable leaf harvesting and effects of plant density on wild leek cultivation plots and natural stands in Southern Quebec, Canada. **Agroforestry Systems**, v. 90, p. 979-995, 2016.

DO, Chi. *et al.* NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. **Molecular ecology resources**, v. 14, n. 1, p. 209-214, 2014.

DUTRA, R. C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

FICK, S.E.; HIJMANS, R.J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**, v.37, n.12, p. 4302–4315, 2017.

FOLEY, J. A. *et al.* Global consequences of land use. **Science**, v. 309, n. 5734, p. 570-574, 2005.

FLOWER, C. E. *et al.* Optimizing conservation strategies for a threatened tree species: in situ conservation of white ash (*Fraxinus americana* L.) genetic diversity through insecticide treatment. **Forests**, v. 9, n. 4, p. 202, 2018.

FRANÇOIS, O. Running structure-like population genetic analyses with R. **R Tutor Popul. Genet. U. Grenoble-Alpes**, p. 1-9, 2016.

FRANKHAM, R. *et al.* **A practical guide for genetic management of fragmented animal and plant populations**. Oxford University Press, 2019.

FRANKHAM, R.; BRADSHAW, C. JA; 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, 2014.

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.

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

GARCIA-LOR, A. *et al.* A nuclear phylogenetic analysis: SNPs, indels and SSRs deliver new insights into the relationships in the ‘true citrus fruit trees’ group (Citrinae, Rutaceae) and the origin of cultivated species. **Annals of botany**, v. 111, n. 1, p. 1-19, 2013.

GIBSON, L. *et al.* Primary forests are irreplaceable for sustaining tropical biodiversity. **Nature**, v. 478, n. 7369, p. 378-381, 2011.

GUMIER-COSTA, F.G. **Extrativismo de jaborandi na região de Carajás: histórico, situação atual e perspectivas.** 2005. 41 f. Monografia (Especialização) - Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

GUMIER-COSTA, F.G. **Os folheiros do jaborandi: organização, parcerias e seu lugar no extrativismo amazônico.** 2012. 197 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido, Núcleo de Altos Estudos Amazônicos, Universidade Federal do Pará, 2012.

GUMIER-COSTA, F.G.; MCGRATH, D. G.; PEZZUTI, J. C. B.; HOMMA, A. K. O. Parcerias institucionais e evolução do extrativismo de jaborandi na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. **Sustentabilidade em Debate**, Brasília,DF, v. 7, n.3, p. 91-111, 2016.

GRABHER, C. **A governança e a sustentabilidade do extrativismo do Jaborandi na Amazônia e transição para o cerrado e a caatinga.** 2015. 297 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural da Faculdade de Ciências Econômicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

GRIFFITH, M. Patrick *et al.* Will the same ex situ protocols give similar results for closely related species?. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, p. 2951-2966, 2017.

GRIFFITH, M.P. *et al.* Can a botanic garden metacollection better conserve wild plant diversity? A case study comparing pooled collections with an ideal sampling model. **International Journal of Plant Sciences**, v.181, n.5, p. 485–496, 2020.

GRUBER, Bernd *et al.* dartr: an r package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 3, p. 691-699, 2018.

HOBAN, S.; SCHLARBAUM, S. Optimal sampling of seeds from plant populations for *ex-situ* conservation of genetic biodiversity, considering realistic population structure. **Biological Conservation**, v. 177, p. 90-99, 2014.

HOBAN, S.; STRAND, A. *Ex situ* seed collections will benefit from considering spatial sampling design and species' reproductive biology. **Biological Conservation**, v. 187, p. 182-191, 2015.

HOBAN, S.; KALLOW, S.; TRIVEDI, C. Implementing a new approach to effective conservation of genetic diversity, with ash (*Fraxinus excelsior*) in the UK as a case study. **Biological Conservation**, v. 225, p. 10-21, 2018.

HOBAN, S. New guidance for ex situ gene conservation: Sampling realistic population systems and accounting for collection attrition. **Biological Conservation**, v. 235, p. 199-208, 2019.

HOBAN, S. *et al.* Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. **Biological Conservation**, v. 248, p. 108654, 2020a.

HOBAN, S. *et al.* Taxonomic similarity does not predict necessary sample size for ex situ conservation: a comparison among five genera. **Proceedings of the Royal Society B.**, v. 287, n. 1926, p. 20200102, 2020b.

- HOBAN, S. *et al.* Global commitments to conserving and monitoring genetic diversity are now necessary and feasible. **BioScience**, v. 71, n. 9, p. 964-976, 2021.
- HOMMA, A.K.O. **Colhendo da natureza: o extrativismo vegetal na Amazônia**. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- HOMMA, A.K.O. **Extrativismo, biodiversidade e biopirataria na Amazônia**. Brasília,DF: EMBRAPA, 2008.
- HOMMA, A. K. O. Plant extractivism or plantations: what is the best option for the Amazon? **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 74, n. 26, p. 167-186, 2012.
- HOMMA, A.K.O.; MENEZES, A.J.A.de. **Extrativismo de folhas de jaborandi no município de Paraupabas, estado do Pará**. Belém: Embrapa, 2014. 468p.
- HUBAU, W. *et al.* Asynchronous carbon sink saturation in African and Amazonian tropical forests. **Nature**, v. 579, n. 7797, p. 80-87, 2020.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE-IUCN. **IUCN red list categories and criteria, version 3.1, second edition**. 2012. Disponível em: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-2001-001-2nd.pdf> . Acessado em 21 de Abril de 2022.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE-IUCN. **The IUCN red list of threatened species**. 2021. Disponível em: www.iucnredlist.org. Acessado em 21 de junho de 2021.
- JAIN, N.; VERMA, A.; JAIN, N. Formulation and investigation of pilocarpine hydrochloride niosomal gels for the treatment of glaucoma: intraocular pressure measurement in white albino rabbits. **Drug delivery**, v. 27, n. 1, p. 888-899, 2020.
- JAMIESON, I.G.; ALLENDORF, F. W. How does the 50/500 rule apply to MVPs?. **Trends in ecology & evolution**, v. 27, n. 10, p. 578-584, 2012.
- JOMBART, T. *et al.* Adegnet: Exploratory Analysis of Genetic and Genomic Data. 1–187, 2020.
- KASHIMSHETTY, Y.; PELIKAN, S.; ROGSTAD, S.H. Effective seed harvesting strategies for the ex situ genetic diversity conservation of rare tropical tree populations. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, p. 1311-1331, 2017.
- LANES, É.C. *et al.* Landscape genomic conservation assessment of a narrow-endemic and a widespread morning glory from Amazonian savannas. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 532, 2018.
- LAWRENCE, M. J.; MARSHALL, David F.; DAVIES, P. Genetics of genetic conservation. I. Sample size when collecting germplasm. **Euphytica**, v. 84, p. 89-99, 1995.
- LIMA, D.F. *et al.* Seasonal change in main alkaloids of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth), an economically important species from the Brazilian flora. **Plos one**, v. 12, n. 2, p. e0170281, 2017.

- LOUREIRO, J. *et al.* Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: a test with 37 species. **Annals of botany**, v. 100, n. 4, p. 875-888, 2007.
- LOVEJOY, T.E.; NOBRE, C. Amazon tipping point: Last chance for action. **Science Advances**, v. 5, n. 12, p. eaba2949, 2019.
- MARSHALL, D. R.; BROWN, Anthony H. D. Optimum sampling strategies in genetic conservation. **Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow**, October, pp 53-80, 1975.
- MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. Livro vermelho da flora do Brasil. 1. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson; Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 1102 p. 2013. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/arquivos/arquivos/pdfs/LivroVermelho.pdf>. [Acessado em 10 de dezembro de 2021]
- MARTINS, H. *et al.* Identifying outlier loci in admixed and in continuous populations using ancestral population differentiation statistics. **Molecular Ecology**, 25(20), 5029–5042, 2016.
- MILES, L. S. *et al.* Gene flow and genetic drift in urban environments. **Molecular ecology**, v. 28, n. 18, p. 4138-4151, 2019.
- MORIN, P. A. *et al.* SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in ecology & evolution**, v. 19, n. 4, p. 208-216, 2004.
- MOURA, E.F. *et al.* Genetic diversity in a jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf.) germplasm bank assessed by RAPD markers. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 7(3), 1–8, 2005.
- MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- MUNEER, S. *et al.* Studies to reveal importance of Fe for Cd tolerance in Brassica juncea. Int. J. Appl. **Biotech Biochem**, v. 1, n. 3, p. 321-338, 2011.
- NATHAN, R. *et al.* Mechanisms of long-distance seed dispersal. **Trends in ecology & evolution**, v. 23, n. 11, p. 638-647, 2008.
- NOBRE, I.; NOBRE, C. Projeto ‘Amazônia 4.0’: Definindo uma Terceira Via para a Amazônia. **Futuribles, São Paulo**, v. 2, p. 7-20, 2019.
- NOBRE, C.A.; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura**, v. 59, n. 3, p. 22-27, 2007.
- OLIVEIRA, C.S.A. *et al.* Fenologia e prospecção fitoquímica do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holmes). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 621-627, 2016.
- PÁSCOA JÚNIOR, J. G.de; SOUZA, I. L. L. de. Medicinal plants used in the Amazon region: a systematic review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e163101419965-e163101419965, 2021.

- PINHEIRO, C.U.B. Extrativismo, cultivo e privatização do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holm.; Rutaceae) no Maranhão, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 16(2), 141–150, 2002.
- PIRANI, J.R.; DEVECCHI, M. F. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Rutaceae. **Rodriguésia**, v. 69, p. 209-217, 2018.
- PUGH, T.A.M. *et al.* Role of forest regrowth in global carbon sink dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 10, p. 4382-4387, 2019.
- RICARDO, L.M. *et al.* Plants from the Brazilian traditional medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz, 1812–1881). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 3, p. 388-400, 2017.
- REICH, D.; PRICE, A.L.; PATTERSON, N. Principal component analysis of genetic data. **Nature genetics**, v. 40, n. 5, p. 491-492, 2008.
- RODGER, Y.S. *et al.* Evolutionary history and genetic connectivity across highly fragmented populations of an endangered daisy. **Heredity**, v. 126, n. 5, p. 846-858, 2021.
- ROGSTAD, S.H. Saturated NaCl-CTAB solution as a means of field preservation of leaves for DNA analyses. **Taxon**, v. 41, n. 4, p. 701-708, 1992.
- RUSSELLO, M.A. *et al.* From promise to practice: pairing non-invasive sampling with genomics in conservation. **PeerJ**, v. 3, p. e1106, 2015.
- SANDHU, S.S. *et al.* Pilocarpine content and molecular diversity in jaborandi. **Scientia Agricola**, 63 (October), 478–482, 2006.
- SEDDON, J. M.; PARKER, H. G.; OSTRANDER, E. A., ELLEGREN, H. SNPs in ecological and conservation studies: a test in the Scandinavian wolf population. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 2, p. 503-511, 2005.
- SILVA, A.R. *et al.* Range-wide neutral and adaptive genetic structure of an endemic herb from Amazonian Savannas. **AoB Plants**, v. 12, n. 1, p. plaa003, 2020.
- SILVA, B. J. M. da. *et al.* Medicinal plants from the Brazilian Amazonian region and their antileishmanial activity: a review. **Journal of integrative medicine**, v. 16, n. 4, p. 211-222, 2018.
- SILVA, C.A. *et al.* Fire occurrences and greenhouse gas emissions from deforestation in the Brazilian Amazon. **Remote Sensing**, v. 13, n. 3, p. 376, 2021.
- SILVA, R. B. *et al.* Biologia Reprodutiva de *Pilocarpus microphyllus* (Stapf ex Wardlew) na Floresta Nacional dos Carajás. **67º Congresso Nacional de Botânica: Conectando diversidades, revelando o desconhecido**, 229–234. 2000.
- SOUZA-FILHO, P.W.M. *et al.* Four decades of land-cover, land-use and hydroclimatology changes in the Itacaiúnas River watershed, southeastern Amazon. **Journal of Environmental Management**, 167, 175–184, 2016.
- STEVENS, K. *et al.* Reduced gene flow in a vulnerable species reflects two centuries of habitat loss and fragmentation. **Ecosphere**, v. 9, n. 2, p. e02114, 2018.

- SHAPCOTT, A. *et al.* Population genetics of *Philothea sporadica* (Rutaceae) to advise an offset translocation program. **Conservation Genetics**, v. 16, p. 687-702, 2015.
- SKIRYCZ, A. *et al.* Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 653, 2014.
- SMITH, A. L. *et al.* Global gene flow releases invasive plants from environmental constraints on genetic diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 8, p. 4218-4227, 2020.
- TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.
- THOMAS, W.J.W *et al.* Optimising the conservation of genetic diversity of the last remaining population of a critically endangered shrub. **AoB Plants**, v. 13, n. 1, p. plab005, 2021.
- VIGNAL, A. *et al.* A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics selection evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002.
- ZUR, E. Low-dose Pilocarpine Spray to Treat Xerostomia. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 24, n. 2, p. 104-108, 2020.
- WAY, M.J. Collecting seed from non-domesticated plants for long-term conservation. **Seed conservation: turning science into practice**, p. 165-201, 2003.
- WICHMANN, M.C. *et al.* Human-mediated dispersal of seeds over long distances. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 276, n. 1656, p. 523-532, 2009.
- YANG, H. *et al.* Genetic diversity and population structure of the endangered medicinal plant *Phellodendron amurense* in China revealed by SSR markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 66, p. 286-292, 2016.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in ecology & evolution**, v. 11, n. 10, p. 413-418, 1996.

CAPÍTULO 3 DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *PILOCARPUS MICROPHYLLUS* NOS BIOMAS AMAZÔNIA/CERRADO SOB OS CENÁRIOS FUTUROS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS².

Resumo

Pilocarpus microphyllus Stapf. ex Wardlew. (Rutaceae) é uma espécie de planta medicinal endêmica e ameaçada do Brasil tropical. Popularmente conhecido como “jaborandi”, é a única fonte natural de pilocarpina, um alcaloide usado no tratamento médico de glaucoma e xerostomia. Com base nos Modelos de Distribuição de Espécies (MDEs), modelamos a adequação da distribuição geográfica de *P. microphyllus* considerando três Modelos de Circulação Global (GCMs) em dois cenários de mudanças climáticas futuras (SSP2-4.5 e SSP5-8.5). As análises quantitativas realizadas com dez diferentes algoritmos MDEs revelaram que a sazonalidade da precipitação (Bio15) e a precipitação do mês mais seco (Bio14) foram as variáveis bioclimáticas mais importantes. Os resultados evidenciaram quatro principais áreas-chave de ocorrência contínua da planta se espalhando diagonalmente sobre os biomas tropicais brasileiros (Amazônia, Cerrado e Caatinga). As projeções do conjunto para um futuro próximo (2020 a 2040), considerando todos os GCMs e cenários, indicaram impactos negativos para a perda potencial ou redução significativa de habitats adequados para *P. microphyllus* na região de transição entre a Amazônia e o Cerrado no centro e norte do estado do Maranhão, e principalmente no bioma Caatinga no norte do estado do Piauí. Por outro lado, projetam-se impactos positivos da expansão da adequação do habitat vegetal sobre áreas protegidas de cobertura florestal do bioma Amazônia no sudeste do estado do Pará. Visto que o jaborandi tem importância socioeconômica para muitas famílias do Norte/Nordeste brasileiro, é urgente a implementação de políticas públicas de conservação e manejo sustentável, mitigando assim os impactos das mudanças climáticas globais.

Palavras-chave: Impacto das mudanças climáticas; Modelagem de Distribuição de Espécies; biomas tropicais brasileiros; CMIP6 cenários.

² Artigo publicado (Qualis A4, Fator de Impacto = 4.65):

Monteiro, W.P. et al. Potential Distribution of *Pilocarpus microphyllus* in the Amazonia/Cerrado Biomes under Near-Future Climate Change Scenarios. **PLANTS**, v. 12, p. 2106. <https://doi.org/10.3390/plants12112106>

Abstract

Pilocarpus microphyllus Stapf. ex Wardlew. (Rutaceae) is an endemic and threatened medicinal plant species from tropical Brazil. Popularly known as “jaborandi”, it is the unique natural source of pilocarpine, an alkaloid used to medical treat glaucoma and xerostomia. Based on Species Distribution Models (SDMs), we modeled the suitability of *P. microphyllus*'s geographical distribution considering three Global Circulation Models (GCMs) under two future climate change scenarios (SSP2-4.5 and SSP5-8.5). The quantitative analyses carried out using ten different SDM algorithms revealed that precipitation seasonality (Bio15) and precipitation of the driest month (Bio14) were the most important bioclimatic variables. The results evidenced four main key areas of continuous occurrence of the plant spreading diagonally over tropical Brazilian biomes (Amazon, Cerrado and Caatinga). The near-future (2020 to 2040) ensemble projections considering all GCMs and scenarios have indicated negative impacts for the potential loss or significant reduction in suitable habitats for *P. microphyllus* in the transition region between the Amazon and Cerrado into central and northern Maranhão state, and mainly in the Caatinga biome over the northern Piauí state. On the other hand, positive impacts of the expansion of the plant habitat suitability are projected over forest cover protected areas of the Amazon biome in the southeastern Pará state. Since the jaborandi is of socioeconomic importance for many families in the north/northeast Brazil, it is urgent to implement public policies for conservation and sustainable management, thus mitigating the impacts of global climate change.

Keywords: Climate change impacts; Species distribution modelling; Brazilian tropical biomes; CMIP6 scenarios.

3.1 Introdução

A mudança climática global tornou-se uma das importantes ameaças crescentes à biodiversidade na Terra, e há um consenso científico de que as plantas estão entre os grupos mais vulneráveis e ameaçados (Antonelli *et al.*, 2020; Nic Lughadha *et al.*, 2020; Habibullah *et al.*, 2022). As plantas podem se mover, se adaptar ou se extinguir, neste último caso, porque não são capazes de lidar tão rapidamente com o aumento da temperatura do ar na superfície e o estresse hídrico causado pelas mudanças climáticas (Solomon; Kirilenko, 1997; Margrove *et al.*, 2015). Diante do aquecimento global e das mudanças climáticas, as consequentes alterações que variam de escalas globais a regionais nas condições ambientais podem afetar diretamente a fisiologia, a fenologia e a distribuição das plantas em suas diversas faixas (Freimuth *et al.*, 2022; Acevedo; Beaudrot; Meléndez-Ackerman; Trembalay, 2020). Analisando os impactos de futuras mudanças globais particularmente na biodiversidade amazônica, Gomes; Vieira; Salomão; ter Steege (2019) projetou uma redução de 30% e 47% de todas as espécies de plantas e distribuição geográfica, com a bacia amazônica oriental sendo a mais fortemente impactada.

Estudos anteriores já demonstraram o efeito das mudanças climáticas nas plantas medicinais. Por exemplo, Rana *et al.* (2020) e Shen, Yu e Wang (2021) mostraram a influência da precipitação, temperatura e altitude na distribuição potencial, qualidade e adequação do habitat de plantas medicinais e aromáticas economicamente importantes na China e no Nepal. Além disso, espécies de plantas medicinais são particularmente ameaçadas pelas mudanças climáticas, pois as condições futuras podem aumentar a pressão antrópica de exploração desordenada, levando à perda da área de ocorrência natural (Applequist *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2020; Patni *et al.*, 2021).

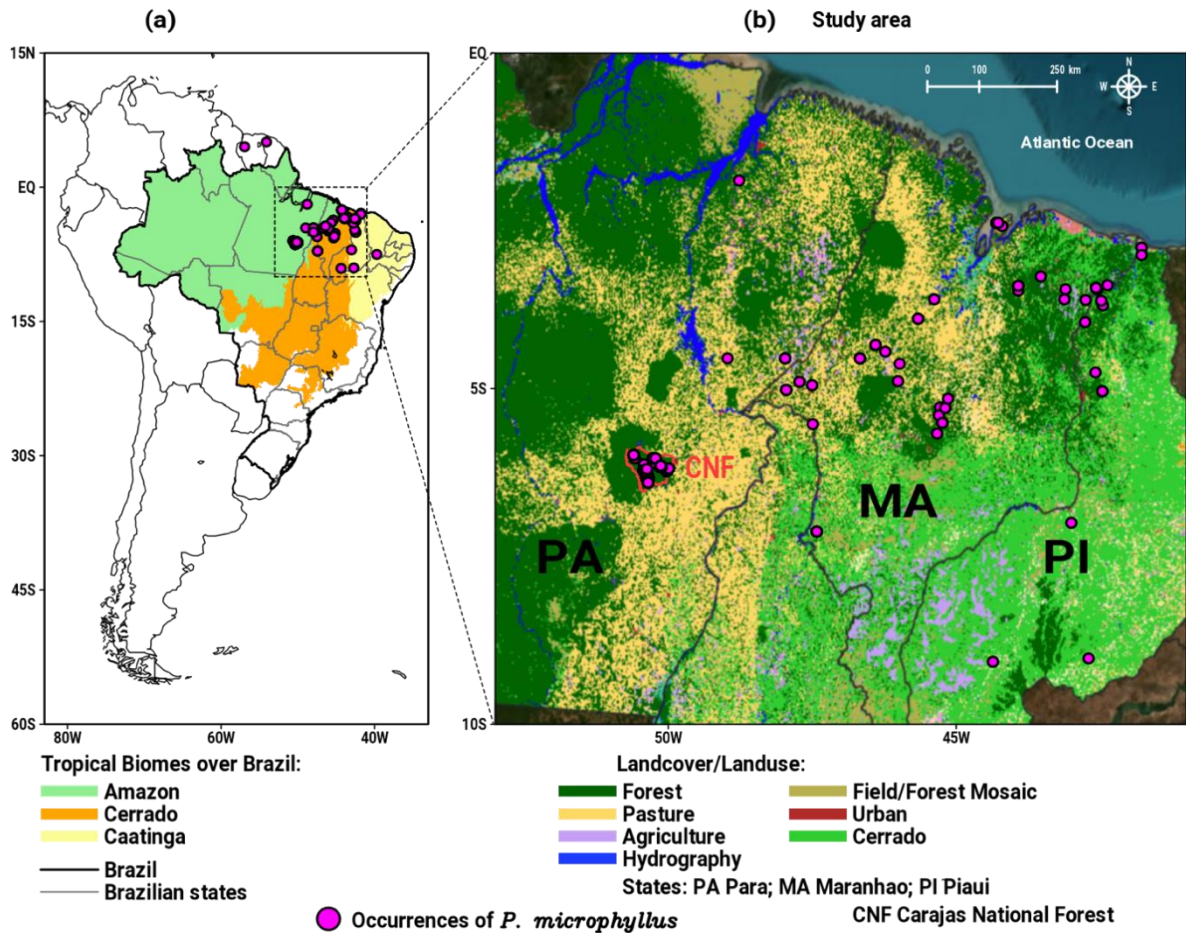
Pilocarpus microphyllus Stapf ex Wardlew. é uma árvore arbustiva medicinal, conhecida popularmente como “jaborandi”, reconhecida como a única fonte natural de *pilocarpina*, um alcalóide imidazólico amplamente utilizado na indústria como ingrediente farmacêutico ativo (IFA) na composição de medicamentos aplicados no tratamento de doenças como glaucoma e xerostomia (Abreu *et al.*, 2011; Caldeira *et al.*, 2017; Jain; Verma; Jain, 2020). A espécie desempenha um papel econômico significativo na geração de renda para diversas famílias que dependem da extração de produtos florestais não madeireiros (Pinheiro, 2002; Homma, 2004). Em 2021, a extração de folhas de jaborandi atingiu aproximadamente 291

toneladas no Brasil (IBGE, 2022) e a exportação da *pilocarpina* movimentou, aproximadamente, cerca de 3,3 milhões de dólares no primeiro semestre de 2019 (Abiquifi, 2020). Assim, por causa das pressões socioeconômicas, *P. microphyllus* está sob ameaça de extinção e foi colocado na categoria “Vulnerável” (Fernandez *et al.*, 2021) como resultado de práticas extrativistas desordenadas. Nas últimas décadas (especialmente nas décadas de 1970 e 1980), a pressão crescente da superexploração de *P. microphyllus* contribuiu para reduções no tamanho/abundância da população, em toda a sua área de distribuição, ocorrendo o desaparecimento completo em algumas regiões (Pinheiro, 2002; Caldeira *et al.*, 2017; Grabher, 2015).

No continente sul-americano, a espécie *P. microphyllus* é nativa do Norte e Nordeste do Brasil e em algumas áreas da Guiana Francesa e Suriname (ver círculos na Figura 3.1a) (Pirani; Devecchi, 2018; Pinheiro, 1997; Skorupa, 2000). No território brasileiro, esta planta tem ocorrência predominante nos estados do Pará (PA), Maranhão (MA) e Piauí (PI) (Pirani, 2015), abrangendo a porção tropical dos biomas Amazônia, Cerrado e Caatinga, conforme Figura 3.1a. Portanto, o foco desta pesquisa está na área de estudo ilustrada na Figura 3.1b onde os pontos de ocorrência de *P. microphyllus* são mais abundantes. MA é o maior produtor de jaborandi, seguido por PA e PI (IBGE, 2022). O PA é considerado uma das maiores reservas naturais de *P. microphyllus* na Amazônia oriental, de forma que os pontos de ocorrência são restritos dentro da Unidade de Conservação (UC), conhecida como Floresta Nacional de Carajás (CNF; ver localização na Figura 3.1b) (Caldeira *et al.*, 2017; Gumier-Costa, 2012). De fato, uma característica ambiental notável ao visualizar o mapa de cobertura e uso da terra na Figura 3.1b é a presença de extensas áreas de pastagem (áreas amarelas) entre os biomas Amazônia e Cerrado (Pará e Maranhão). O nível de desmatamento tem se intensificado nessas áreas devido às múltiplas atividades antrópicas (agricultura, pecuária, assentamentos e mineração), o que resulta na perda e fragmentação do habitat das plantas (Souza-Filho *et al.*, 2016). O impacto das atividades humanas sobre as espécies ameaçadas é ainda mais grave, pois são mais sensíveis às mudanças climáticas, pois seu habitat é diretamente influenciado pelos padrões climáticos regionais representados pela temperatura do ar na superfície e regimes de precipitação (Rana *et al.*, 2020; Wani *et al.*, 2023; Cao *et al.*, 2020). A distribuição das espécies ao redor do mundo depende de um conjunto de aspectos abióticos e bióticos, incluindo os tipos de vegetação onde as espécies crescem, porém nos biomas tropicais brasileiros as condições climáticas desempenham um papel relevante, de modo que as mudanças climáticas podem afetar

diretamente a disponibilidade de recursos adequados habitats no futuro (Jha, K.; Jha, R., 2021; Kong *et al.*, 2021; Panja; Podder; Homechaudhuri, 2021).

Figura 3.1 - Mapas com os pontos de ocorrência de *P. microphyllus* (círculos) sobre: (a) América do Sul enfatizando o domínio geográfico dos três Biomas tropicais sobre o Brasil; (b) área de estudo do presente trabalho no norte/nordeste do Brasil com o mapa de cobertura/uso do solo no ano de 2020.



Poucos estudos examinaram como as condições climáticas podem afetar o crescimento, reprodução e distribuição potencial de *P. microphyllus*. Lima *et al.* (2017) mostraram os níveis mais altos de *pilocarpina* na estação seca e os níveis mais baixos na estação chuvosa. Mais recentemente, Caldeira *et al.* (2017) encontraram possíveis áreas propícias para a ocorrência de *P. microphyllus*, mas não avaliou as consequências das mudanças climáticas na distribuição geográfica de habitats adequados no futuro. Portanto, é fundamental entender como a distribuição geográfica pode responder às mudanças climáticas, uma vez que essas espécies são usadas pelas comunidades locais e tendem a ter um alto valor econômico, com altas demandas para a indústria farmacêutica (Pinheiro, 2002; Abiquifí, 2020).

A Modelagem de Distribuição de Espécies (MDE) é uma técnica científica e computacional robusta com alto nível de confiabilidade em estudos ambientais (Peterson *et al.*, 2022; Sillero; Campos; Arenas-Castro; Barbosa, 2023; Zurell *et al.*, 2020). MDE tem sido considerada uma ferramenta essencial para verificar o efeito das mudanças climáticas na distribuição dos organismos naturais ao longo do tempo (Peterson *et al.*, 2011). Este método utiliza dados de ocorrência de espécies juntamente com dados ambientais e ecológicos, projetando e mapeando os locais com maior probabilidade de serem adequados para as espécies. As projeções de mapas em cenários futuros permitem avaliar a eficácia das atuais Áreas Protegidas (Eustace *et al.*, 2021) e, também, podem auxiliar cientistas e tomadores de decisão no planejamento de estratégias integradas de conservação/restauração da biodiversidade (Park; Park; Borzée, 2021; Amaral; Ferreira; Mann, 2021).

Aqui, aplicamos a abordagem MDE para avaliar as áreas de habitat adequadas para espécies de *P. microphyllus* sob cenários climáticos atuais e diferentes futuros. O MDE ajudará a entender como as mudanças climáticas afetam a distribuição geográfica, com a hipótese de que, à medida que a temperatura do ar aumenta e os regimes de chuvas são modificados nas condições futuras, algumas áreas podem se tornar menos ou mais adequadas para *P. microphyllus*. Portanto, os objetivos do estudo são (i) determinar a distribuição potencial de habitats adequados para *P. microphyllus* associados a variáveis ambientais durante o clima atual; (ii) investigar o impacto dos cenários de mudanças climáticas globais na distribuição da ocorrência desta espécie durante as próximas duas décadas (2020 a 2040).

O estado da arte em modelagem ambiental pode contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre essa planta de relevância tanto para a biologia da conservação quanto para as práticas humanas que delas dependem socio-economicamente. Os resultados devem nos fornecer ideias e conhecimentos úteis para identificar regiões prioritárias para a conservação da espécie e fornecer informações para delinear áreas de exploração sustentável do jaborandi, juntamente com a implementação de programas de conservação *ex-situ* para proteger a diversidade genética das populações desta espécie em extinção.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Espécie estudada, área de estudo e dados de coleta

Pilocarpus microphyllus Stapf ex Wardleworth é um arbusto ou pequena árvore que pertence à família Rutaceae. A espécie é diplóide perene ($2n=22$), alógama e atinge uma altura de 3–6m (Pirani Devecchi 2018; Skorupa, 2000). *P. microphyllus* são encontradas no continente sul-americano (Figura 3.1a), principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, mais precisamente, nos estados do Pará, Maranhão e Piauí (Figura 3.1b) (CNCFlora, 2012; Pirani, 2015; Martinelli Moraes, 2013). *P. microphyllus* cresce em regiões com altitudes baixas a altas (entre 50 e 550 m) e temperaturas do ar mais amenas e estação chuvosa bem definida (Marques; Costa, 1994). A Figura 3.1b mostra que a área de estudo engloba a ocorrência de *P. microphyllus* ao longo da porção tropical dos biomas Amazônia e Cerrado (Pará e Maranhão), bem como uma pequena área do bioma caatinga (oeste do Piauí) (Nascimento; Novais, 2020; Nobre *et al.*, 2009). Assim, os biomas Amazônia e Cerrado são as áreas mais significativas de ocorrências de *P. microphyllus* no Brasil. Cada bioma apresenta características climáticas distintas, por exemplo, na Amazônia, o clima é quente e úmido, com alta pluviosidade e umidade do ar durante todo o ano (Hasenack *et al.*, 2019; Nobre *et al.*, 2009). O Cerrado tem invernos secos e verões chuvosos, enquanto na Caatinga apresenta condições semiáridas com curta duração da estação chuvosa (Nascimento; Novais, 2020; Tabarelli *et al.*, 2018).

Os registros de ocorrência de *P. microphyllus* utilizadas neste estudo foram extraídas do banco de dados *SpeciesLink* (<https://specieslink.net>, acessado em janeiro de 2022), bem como todos os registros utilizados no estudo por Monteiro *et al.* (2022). Primeiro, os dados do *SpeciesLink* foram checados para verificar se todos os pontos de ocorrência realmente pertencem a *P. microphyllus* e se há dados duplicados e/ou ausentes. Além disso, foram verificadas as coordenadas geográficas, pois pode haver inconsistências relacionadas a possíveis erros de digitação. Após esta etapa, os pontos de ocorrência localizados nos estados do Maranhão e Piauí foram mantidos do banco de dados *SpeciesLink*, enquanto os pontos sobre o estado do Pará foram mantidos de Monteiro *et al.* (2022). É importante ressaltar que utilizamos apenas registros das espécies que ocorrem naturalmente na área de estudo (Figura 3.1b) (CNCFlora, 2012; Pirani 2015; Martinelli; Moraes, 2013).

3.2.2 Variáveis bioclimáticas no clima atual e cenários futuros

Para este estudo, foram selecionadas as 19 variáveis bioclimáticas para modelagem no cenário climático atual, obtidos da base de dados WorldClim versão 2.1 para 1970-2000 (Fick; Hijmans, 2017; <http://www.worldclim.org>, acessado em 28 de janeiro de 2022), com resolução de 30 segundos de arco (~1 km). Primeiro, a função "removeCollinearity" do pacote *virtualspecies* em R (Leroy; Meynard; Bellard; Courchamp, 2016; R Development Core Team, 2019) foram usados para eliminar as variáveis bioclimáticas que estavam correlacionadas ($r > 0,85$) entre si. Das 19 variáveis testadas, 10 permaneceram nas análises diagnósticas, entre elas: Faixa Diurna Média (Bio2), Isotermalidade (Bio3), Sazonalidade da Temperatura (Bio4), Precipitação do Trimestre Mais Frio (Bio9), Temperatura Média do Trimestre Mais Quente (Bio10), Precipitação do mês mais seco (Bio14), Sazonalidade da precipitação (Bio15), Precipitação do trimestre mais úmido (Bio16), Precipitação do trimestre mais quente (Bio18) e Precipitação do trimestre mais frio (Bio19).

No que diz respeito à análise do impacto de mudanças climáticas futuras na distribuição de *P. microphyllus* durante um período de 20 anos (2021-2040), utilizou-se simulações de Modelos de Circulação Global (GCMs) da Fase 6 do Projeto de Intercomparação de Modelos Acoplados (CMIP6; Panja; Podder; Homechaudhuri, 2021; Mithun; Pradeep Kumar; Pradeep, 2023). Foram utilizados três GCMs: CanESM5, MRI-ESM2-0 e MIROC6 que melhor reproduzem o padrão espacial de precipitação para a América do Sul, segundo Rivera; Arnould (2020) e Almazroui *et al.* (2021). Em termos de condições climáticas futuras, foram utilizados dois cenários de Percursos Sócioeconômicos Compartilhados (SSPs): SSP2-4.5, que representa projeções moderadas, pois sugere um aumento da temperatura global do ar entre 0,9 e 2°C (considerando políticas globais de mitigação para reduzir as emissões de gases com efeito de estufa); e SSP5-8.5, que representa o cenário pessimista, que sugere um aumento exponencial das emissões de CO₂ ao longo do século XXI e um aumento da temperatura global entre 1,4 e 2,6°C. Nesta pesquisa, os dados GCMs para projeções de cenários futuros (2021-2040) também foram obtidos do banco de dados WorldClim.

3.3.3 Modelagem de distribuição de espécies (MDE)

Na abordagem de modelagem, os dados de ocorrência de *P. microphyllus* foram usados como variável de resposta e dados bioclimáticos e ambientais como variáveis preditoras no pacote “Biomod2” desenvolvido no ambiente R (Thuiller *et al.*, 2021). A última versão Biomod2 (3.5.1) é utilizada para identificar as áreas mais prováveis de ocorrência de espécies através das interseções e interações entre fatores biofísicos e ambientais (Thuiller *et al.*, 2009). A fim de reduzir as incertezas produzidas por vieses e limitações do uso individual de técnicas estatísticas, utilizamos o Biomod 2, que utiliza múltiplas técnicas de modelagem e permite gerar predições *ensemble* baseadas no consenso entre modelos (Sillero *et al.*, 2023). Assim, para ajustes do modelo, empregamos até 10 algoritmos de modelagem diferentes: quatro algoritmos de aprendizado de *machine learning algorithms* (Modelagem de reforço generalizada – GBM - Freund; Schapire, 1997; Rede neural artificial - ANN, Venables; Ripley, 2013; Análise de árvore de classificação – CTA - Breiman; Friedman; Olshein; Stone, 1984; Floresta aleatória – RF - Breiman, 2002) e seis algoritmos de regressão (Modelagem linear generalizada – GLM - Guisan; Edwards; Hastie, 2002; Modelos aditivos generalizados – GAM - Hastie; Tibishirani, 1995; Bioclim – BC - Booth *et al.*, 2014; Análise discriminada flexível – FDA - Hastie; Tibishirani, 1994; Splines de regressão adaptativa multivariada – MARS - Friedman, 1991; Entropia máxima – Maxent - Phillips; Anderson; Schapire, 2006).

Para este estudo, como existem registros da presença da planta e para a maioria dos modelos estatísticos é necessário ter dados sobre a presença e ausência da espécie, foram gerados pontos de pseudo-ausência amostrados em toda a área de estudo. Em termos de redução das incertezas de modelagem, adotamos o procedimento de cálculo de consenso (*ensemble*), para que os resultados possam ser consistentes com diferentes estudos de modelagem (Araújo; New, 2007). A avaliação do desempenho do modelo foi realizada por meio da métrica TSS (*True Skill Statistics*) e da curva ROC (*Receive Operating Characteristic*). Como TSS é a métrica mais aplicada como uma medida simples, mais robusta e intuitiva do desempenho de modelos de distribuição de espécies, utilizamos essa métrica para avaliar os melhores modelos para compor o consenso, de forma que apenas modelos com $TSS \geq 0,6$ foram considerados para compor o *ensemble* (Allouche; Tsoar; Kadmon, 2006). Assim, o modelo de distribuição de consenso foi obtido por meio da estatística entre os melhores modelos. Além disso, binarizamos os mapas de distribuição atual e futuro usando os valores limiares maximizados de TSS, para transformar em mapas de ausência/presença variando de 0 a 1 (Liu; White; Newell, 2011), porém nossos resultados serão enfatizados para valores acima de 0,5 contendo a maior

probabilidade de áreas adequadas para as espécies estudadas. Os resultados foram apresentados separadamente para cada um dos três GCMs nos cenários SSP2-4.5 e SS5-8.5, bem como o mapa *ensemble* considerando a integração de todos os GCMs e cenários foi plotado e analisado. Este último, consideramos como o principal resultado deste estudo, por contemplar variáveis bioclimáticas e ambientais relevantes na determinação de áreas contínuas com maior probabilidade de ocorrência de habitats adequados para *P. microphyllus* ao longo dos biomas tropicais do norte/nordeste do Brasil. O mapeamento busca identificar as áreas-chave propícias à ocorrência da espécie. Ao nível da avaliação quantitativa, são calculadas estatísticas descritivas em cada área-chave, seguidas da plotagem dos resultados em forma de boxplot, permitindo assim comparações de padrões atuais e futuros. Todas as análises e resultados foram conduzidos em ferramentas computacionais e científicas baseadas no ambiente R (versão 4.2.2, Team R Core, 2022) e QGIS v. 3.22.4 (QGIS Development Team, 2021).

3.4 Resultados

Inicialmente, avaliamos a consistência e qualidade da modelagem ambiental para as espécies estudadas. Em termos de métricas utilizadas, o TSS e o ROC obtiveram valores de 0,923 e 0,993, respectivamente (Tabela 3.1). Esses valores indicam altos níveis de precisão e poder preditivo adequado e desempenho para validação do modelo. As integrações dos dez algoritmos do MDE revelaram que a distribuição atual de *P. microphyllus* é dependente de variáveis bioclimáticas (Tabela 3.2), sendo a precipitação sazonal (Bio15) e a precipitação do mês mais seco (Bio14) as mais importantes para a espécie em toda a área de estudo.

Tabela 3.1 - Análise do desempenho dos modelos utilizando a métrica TSS e curva ROC.

estatística	Cutoff	Sensitividade	Especificidade	Calibração
TSS	452.0	94.370	97.451	0.918*
ROC	452.3	94.372	97.450	0.993*

*Significant value.

Tabela 3.2 – Variáveis bioclimáticas e estatística da distribuição atual.

Variáveis bioclimáticas	estatística
Precipitação do trimestre mais frio (Bio9)	0.0821
Temperatura Média do Trimestre Mais Quente (Bio10)	0.177

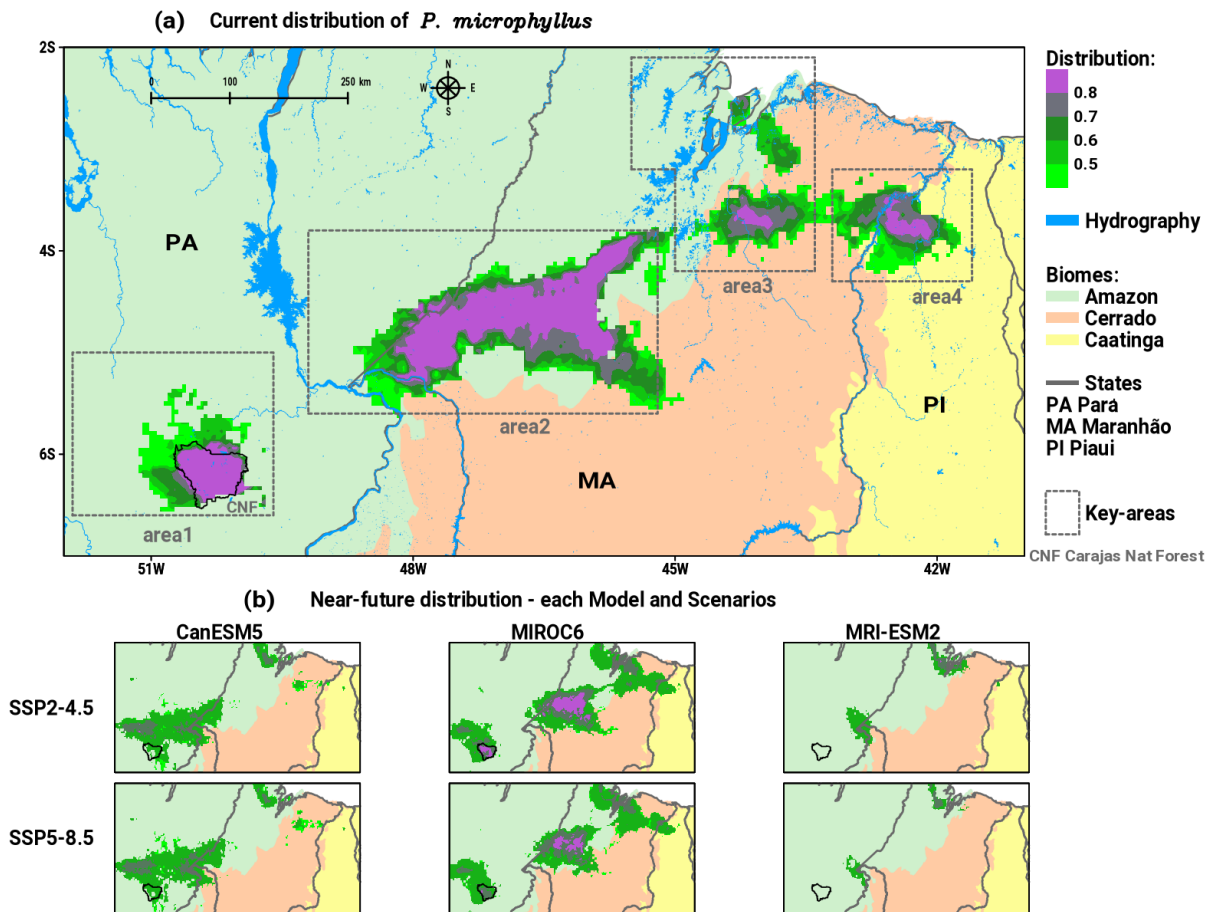
Precipitação do mês mais seco (Bio14)	0.211*
Sazonalidade da precipitação (Bio15)	0.286*
Precipitação do trimestre mais úmido (Bio16)	0.0799
Precipitação do trimestre mais quente (Bio18)	0.0917
Precipitação do trimestre mais frio (Bio19)	0.0523
Faixa Diurna Média (Bio2)	0.161
Isotermalidade (Bio3)	0.158
Sazonalidade da Temperatura (Bio4)	0.0975

*Significant value.

Os resultados obtidos no modelo de conjunto demonstraram que a distribuição atual de *P. microphyllus* apresenta quatro áreas principais espacialmente contínuas (ver Figura 3.2a). A Area1 está localizada inteiramente no bioma amazônico dentro da área protegida do CNF no sudeste do estado do PA. A Área2 é a mais extensa da região, na transição entre os biomas Amazônia e Cerrado, entre os estados do PA e MA. Já na zona de transição entre a Amazônia e o Cerrado, na parte equatorial do MA, verifica-se a área3. Na porção mais oriental da região, a area4 ocorre na zona de transição entre os biomas Cerrado e Caatinga, entre os estados do MA e PI. Observa-se certa separação entre área1 e área2 devido à presença do rio Tocantins na divisa PA e MA, também entre área2 e área3 pelo rio Mearim no estado do MA.

Em relação às simulações de futuro próximo (2020 a 2040) geradas pelo SDM, a Figura 3.2b mostra os resultados obtidos para cada GCM nos cenários SSP2-4.5 e SSP5-8.5, que indicam um padrão geral de redução de áreas aptas para ocorrência de *P. microphyllus* ao longo das áreas-chave.

Figura 3.2- Distribuição potencial de habitats adequados para *P. microphyllus* espécie (áreas sombreadas de verde a roxo) no norte/nordeste do Brasil entre os biomas Amazônia, Cerrado e Caatinga considerando: (a) distribuição atual; (b) projeções para um futuro próximo para cada um dos três GCMs e cenários SSP2-4.5 e SSP5-8.5. Polígonos em linhas tracejadas cinza em (a) indicam as áreas-chave de ocorrência da espécie.



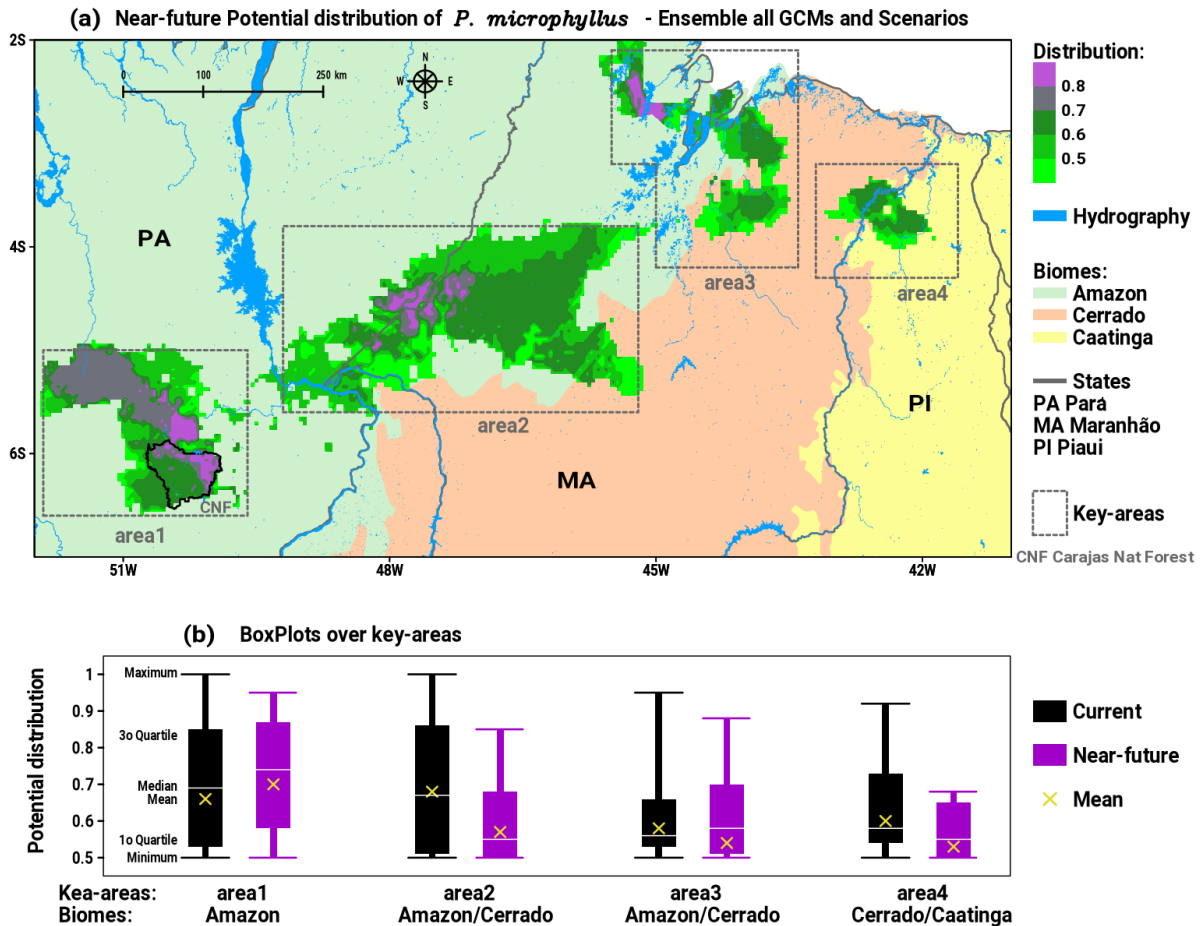
As análises do consenso ou conjunto de todos os GCMs e cenários para um futuro próximo (2020 a 2040) é sintetizado na Figura 3.3a. Comparando os padrões da distribuição atual na Figura 3.2a com o futuro na Figura 3.3a, podemos distinguir mudanças visíveis na área2, área3 e área4 que mostram tendências decrescentes tanto nos padrões espaciais quanto nas intensidades médias a altas de habitats adequados para *P. microphyllus*. Por outro lado, a área1 mostra uma expansão e intensificação de áreas adequadas ao norte e noroeste, em direção a áreas protegidas com cobertura florestal primária no sudeste da UC. A Tabela 3.3 apresenta os valores das estatísticas descritivas calculadas em cada área-chave de distribuição potencial de *P. microphyllus*. Esses resultados são plotados na Figura 3.3b como *boxplots* com a comparação entre padrões atuais e futuros próximos, permitindo assim extrair informações quantitativas sobre os impactos das mudanças climáticas. O efeito das mudanças ambientais nas próximas décadas é de expansão da área1, mantendo a intensidade de média a alta probabilidade de áreas adequadas para a espécie, conforme indicado pelo *boxplot* para futuro próximo posicionado relativamente acima da distribuição atual (Figura 3.3b). Na área2 que é a

mais diagonalmente extensa entre os biomas Amazônia e Cerrado, não há mudança significativa na dimensão espacial (Figura 3.2a), porém o *boxplot* apresentou estatísticas para o período futuro próximo bem abaixo do atual (Figura 3.2b), indicando uma diminuição da intensidade da distribuição dos habitats da planta. As simulações para area3 mostram indícios de retração espacial relativa ao sul e expansão ao norte (Figura 3.3a), com a posição do *boxplot* do futuro próximo apresentando valores significativos abaixo do padrão atual (Figura 3.3b). O sinal de impacto mais intenso é esperado na área 4, onde se configura claramente uma grande redução espacial (Figura 3.3a) com consequente diminuição robusta na intensidade da adequação da distribuição das espécies, conforme indicado pelo *boxplot* para a atual em comparação com o futuro próximo. Esse resultado revela que os habitats adequados para *P. microphyllus* quase desaparecerão no bioma caatinga.

Tabela 3.3- Estatísticas calculadas em cada área-chave de distribuição potencial de *P. microphyllus*.

Áreas-chave	período	mínimo	1° quartil	mediana	significar	3° quartil	máximo
area1	Atual	0,50	0,53	0,69	0,66	0,85	1,00
	Futuro próximo	0,50	0,58	0,74	0,70	0,87	0,95
area2	Atual	0,50	0,51	0,67	0,68	0,86	1,00
	Futuro próximo	0,50	0,51	0,55	0,57	0,68	0,85
area3	Atual	0,50	0,53	0,56	0,58	0,66	0,95
	Futuro próximo	0,50	0,51	0,58	0,54	0,70	0,88
area4	Atual	0,50	0,54	0,58	0,60	0,73	0,92
	Futuro próximo	0,50	0,50	0,55	0,53	0,65	0,68

Figura 3.3 - (a) Distribuição potencial em um futuro próximo (2020 a 2040) de habitats adequados para *P. microphyllus* (áreas sombreadas de verde a roxo) considerando o conjunto de todos os GCMs e cenários; (b) Boxplots da distribuição nas quatro áreas-chave considerando as estatísticas para projeções atuais e futuras.



3.5 Discussão

A abordagem de modelagem usando MDE com integrações de vários algoritmos representando interações ambientais demonstrou o efeito dominante da precipitação sazonal (Bio14 e Bio15) na determinação das áreas de ocorrência de *P. microphyllus* ao longo dos biomas tropicais brasileiros. Quatro áreas-chave desta espécie foram identificadas e projeções para um futuro próximo usando os dados fornecidos por três GCMs considerando dois cenários de emissões globais (SSP2-4.5 e SSP5-8.5) indicaram tendências de retração espacial substanciais em habitats potencialmente adequados para a sobrevivência de *P. microphyllus* particularmente em regiões de transição entre os biomas Amazônia/Cerrado/Caatinga (central ao norte dos estados do Maranhão e Piauí). Tais impactos negativos foram associados a futuras mudanças nos regimes sazonais de chuvas no leste da Amazônia e nordeste do Brasil.

Nossas descobertas são consistentes com estudos anteriores de impactos ambientais e climáticos nas mais diversas distribuições de espécies de plantas. Igawa; Toledo; Anjos (2022) relataram a precipitação do mês mais seco como a variável principal para prever as áreas adequadas na distribuição de *Theobroma cacao* L., espécie de importância econômica para muitos pequenos agricultores no Brasil. Centeno - Alvarado; Luiza; Cruz-Neto; Lopes (2022) demonstraram a importância da sazonalidade da precipitação como cofator relevante para determinar a distribuição da palma forrageira, Tacinga palmadora (Britton & Rose) N. P. Taylor & Stuppy, endêmica do Brasil, no bioma Caatinga. Tian; Liu; Sui (2022) observaram uma diminuição nas regiões aptas para *Zanthoxylum armatum* (Rutaceae) e sugerem que a espécie é suscetível às mudanças climáticas. Além disso, Fragnière *et al.* (2020) mostraram que, em cenários climáticos futuros, as áreas adequadas para muitas espécies podem ser reduzidas, o que pode indicar um aumento do risco de extinção. Evidências adicionais mostram que a redução de áreas de condições climáticas adequadas afeta os recursos de forrageamento disponíveis para os polinizadores, ameaçando a reprodução sexual e a variabilidade genética das plantas (Gómez-Ruiz; Lacher Jr., 2019; Kolanowska; Michalska; Konowalik, 2021).

Apesar da ocorrência de *P. microphyllus* no Nordeste do Brasil, onde o clima é mais quente com estações secas prolongadas, estudos anteriores sugeriram que é encontrado principalmente nas terras baixas do bioma Amazônia brasileira (Santos; Moreno, 2004; Skorupa, 1996). Conforme Caldeira *et al.* (2017), *P. microphyllus* está localizado em Floresta Nacional de Carajás (CNF), uma unidade de conservação federal sustentável localizada no sudeste do estado do Pará, Amazônia oriental. Esta região é caracterizada por precipitações entre 2.000 e 2.400 mm, enquanto a temperatura média anual varia entre 23°C e 26°C (Ab'Saber, 1986), o que proporciona à espécie maturação de seus frutos, flores e posteriormente um bom crescimento (Moreira; Lameira; Campelo; Ramires, 2021). Um estudo recente sobre o *P. microphyllus* espécies mostradas que o aumento da temperatura e a diminuição da precipitação, projetadas nos cenários dos RCPs, podem afetar o crescimento das mudas de jaborandi (Gomes; Vieira; Salomão; Ter Steege, 2019). Além disso, esses autores enfatizaram o impacto negativo no crescimento em altura, diâmetro e área foliar das mudas causado pelo estresse hídrico. Outro estudo (Moreira *et al.*, 2021) registrou os efeitos da precipitação e da temperatura nos padrões fenológicos de *P. microphyllus* e mostram que a frutificação e a floração atingiram o pico no período mais chuvoso.

Ribeiro *et al.* (2019) mostraram impactos significativos das mudanças climáticas na adequação ambiental do *Dipteryx alata* Vogel no Cerrado brasileiro. Resultados semelhantes foram relatados em outros estudos de espécies vegetais do Cerrado, relacionados aos impactos das mudanças climáticas (Ribeiro *et al.*, 2019; Costa-Coutinho *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2022). No entanto, apesar desses estudos demonstrarem efeitos negativos na distribuição de plantas nesse bioma, Tomaz *et al.* (2022) indicaram que uma espécie de planta medicinal tende a se adaptar em diferentes condições ambientais, uma vez que a distribuição da espécie tende a diminuir na Mata Atlântica e na Caatinga do Nordeste do Brasil.

Assim, há evidências científicas de que mudanças globais a regionais nas condições ambientais podem impactar negativamente as plantas medicinais, causando diminuição de habitats adequados, alterações na produtividade das plantas e até mesmo promover o caso mais grave de extinção de espécies (Applequist *et al.*, 2020; Srivastava; Misra, 2018). Considerando a importância dessas plantas para a indústria farmacêutica (Abiquifi, 2020), espera-se que as mudanças climáticas tenham um impacto negativo na economia regional. Por exemplo, no estado do Pará, na Amazônia oriental, a coleta de *P. microphyllus* tornou-se uma importante fonte de renda para várias famílias e tem impulsionado a economia local (Bannitz *et al.*, 2015; Gumier-Costa *et al.*, 2016). Segundo o IBGE (2022), no estado do Pará, a extração de folhas de jaborandi movimentou aproximadamente 38t/ano, referente à extração da planta realizada no Brasil no ano de 2021. Do ponto de vista socioeconômico, a renda produzida pelo extrativismo do jaborandi gira atualmente em torno de R\$ 2.500 (renda mensal/extrativista, porém, a família tende a participar no período da colheita, o que possivelmente pode contribuir para o aumento renda familiar (Nobre; Arieira, 2021). Nossos resultados apontam para uma expansão de habitats adequados para esta espécie no sudeste do Pará, principalmente ao redor do CNF. As projeções para o sudeste da Amazônia, incluindo a área do CNF, indicam uma intensificação da estação chuvosa, especialmente no cenário SSP2-4.5. Portanto, esta região não será impactada pela redução da planta, mas planos de manejo sustentável são recomendados por estarem dentro de áreas protegidas com cobertura florestal primária. Amaral *et al.* (2022) demonstraram o impacto das mudanças climáticas no crescimento das mudas de jaborandi, afetando diretamente sua produção futura. Nossos resultados corroboram com os achados desses autores, mas os impactos negativos mais significativos devem ocorrer nas regiões de transição entre os biomas Amazônia e Cerrado ao longo do estado do Maranhão e principalmente na divisa com o estado do Piauí já dentro do bioma Caatinga, cujas projeções

de retração espacial e intensa diminuição de habitats adequados da planta podem realmente comprometer a economia de muitas famílias nestes dois estados do norte e nordeste do Brasil.

3.6 Conclusão

A abordagem de modelagem ambiental baseada em MDE foi bem-sucedida na determinação de quatro principais áreas-chave contendo habitats adequados para a distribuição atual de *P. microphyllus* espécies nos biomas tropicais brasileiros da Amazônia, Cerrado e Caatinga.

Com base nos resultados de uma projeção de conjunto robusta construída com variáveis bioclimáticas representando a precipitação sazonal consensual de três GCMs (CanESM5, MRI-ESM2-0 e MIROC6) sob dois cenários globais de mudança climática (SSP2-4.5 e SSP5-8.5), nos concluem que os impactos mais severos para a perda potencial ou redução significativa de habitats adequados para *P. microphyllus* estarão na região de transição entre os biomas Amazônia e Cerrado no centro e norte do Maranhão e, também principalmente no bioma Caatinga no norte do Piauí onde o provável desaparecimento quase completo desta planta é esperado nas próximas duas décadas (2020 a 2040). Por outro lado, os impactos positivos da futura expansão e intensificação da adequação do habitat para *P. microphyllus* espécies são projetadas para áreas do bioma Amazônia no sudeste do Pará, onde ainda predomina a cobertura vegetal de floresta primária dentro do mosaico de áreas protegidas (Floresta Nacional de Carajás e outras).

As informações e conhecimentos acima mencionados sobre a distribuição atual e futura de *P. microphyllus* devem ser considerados pelos tomadores de decisão para mitigar os impactos das mudanças climáticas. A recomendação de criação de novas áreas protegidas (áreas de florestas primárias auxiliam diretamente na expansão de espécies vegetais) deve ser uma prioridade ambiental principalmente no estado do Maranhão. Tendo em vista que o jaborandi tem importância socioeconômica para muitas famílias do Norte/Nordeste brasileiro (relacionado à exploração extrativista de produtos não madeireiros), é urgente a implementação de políticas públicas de conservação e manejo sustentável, como sugerido mundialmente, por pesquisadores em diferentes continentes, para outras espécies de plantas ameaçadas

(Wagensommer; Venanzoni, 2021; Steyn *et al.*, 2019; Mithun; Pradeep Kumar; Pradeep, 2023), juntamente com a criação de programas de conservação *ex-situ* para proteger a diversidade genética (banco de germoplasma) das populações desta espécie ameaçada de extinção.

Referências

- ABIQUIFI. Os 10 principais insumos farmacêuticos exportados por códigos específicos da TEC. Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica e de Insumos Farmacêuticos. 2020. Disponível em: <http://www.abiquifi.org.br/mercado/mes-a-mes>. Acessado em: 13 de dezembro de 2021.
- AB'SABER, A.N. Geomorfologia da região. *In*: ALMEIDA, J.M.G (org.). **Carajás: desafio político, ecologia e desenvolvimento**. Brasília,df: CNPq, 1986.
- ABREU, I.N. *et al.* Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, v. 77, n. 03, p. 293-300, 2011.
- ACEVEDO, M.A.; BEAUDROT, L., MELENDÉZ-ACKERMAN, E. J.; TREMBLAY, R. L. Local extinction risk under climate change in a neotropical asymmetrically dispersed epiphyte. **Journal of Ecology**, v. 108, n. 4, p. 1553-1564, 2020.
- ALLOUCHE, O.; TSOAR, A.; KADMON, R. Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS). **Journal of applied ecology**, v. 43, n. 6, p. 1223-1232, 2006.
- ALMAZROUI, M. *et al.* Projected changes in temperature and precipitation over the United States, Central America, and the Caribbean in CMIP6 GCMs. **Earth Systems and Environment**, v. 5, p. 1-24, 2021.
- AMARAL, G. C. *et al.* *Pilocarpus microphyllus* seedling growth threatened by climate change: an ecophysiological approach. **Theoretical and Applied Climatology**, p. 1-15, 2022.
- AMARAL, L.A.; FERREIRA, R. A.; MANN, R.S. O uso de modelagem de distribuição de espécies para restauração florestal: Uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e46610817158-e46610817158, 2021.
- ANTONELLI, A. *et al.* State of the world's plants and fungi. **Royal Botanic Gardens Kew** 2020. (Relatório de Pesquisa).
- ARAÚJO, M.B.; NEW, M. Ensemble forecasting of species distributions. **Trends in ecology & evolution**, v. 22, n. 1, p. 42-47, 2007.
- BANNITZ, F. *et al.* Diagnóstico da Cooperativa dos Extrativistas da Flona de Carajás – COEX-CARAJÁS. **Instituto de Sócio Economia Solidária**. p.81. 2015.
- APPLEQUIST, W. L. *et al.* Scientists' warning on climate change and medicinal plants. **Planta medica**, v. 86, n. 01, p. 10-18, 2020.

- BREIMAN, L. Manual on setting up, using, and understanding random forests v3. 1. **Statistics Department University of California Berkeley**, CA, USA, v. 1, n. 58, p. 3-42, 2002.
- BREIMAN, L.; FRIEDMAN, J.H., OLSHEIN, L.R.A.; STONE C.J. **Classification and regression trees**. Wadsworth and Brooks/Cole, *Monterey*. 358p. 1984.
- BOOTH, T.H. *et al.* BIOCLIM: the first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current MAXENT studies. **Diversity and Distributions**, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2014.
- CALDEIRA, C.F. *et al.* Sustainability of Jaborandi in the eastern Brazilian Amazon. **Perspectives in ecology and conservation**, v. 15, n. 3, p. 161-171, 2017.
- CNCFlora. *Pilocarpus microphyllus* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pilocarpus microphyllus](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pilocarpus%20microphyllus). [Acessado em 1 de Dezembro de 2021]
- CAO, B. *et al.* Wetlands rise and fall: Six endangered wetland species showed different patterns of habitat shift under future climate change. **Science of The Total Environment**, v. 731, p. 138518, 2020.
- CENTENO-ALVARADO, D.; SILVA, J. L. S.; CRUZ-NETO, O.; LOPES, A. V. Climate change may reduce suitable habitats for *Tacinga palmadora* (Cactaceae) in the Caatinga dry forest: species distribution modeling considering plant-pollinator interactions. **Regional Environmental Change**, v. 22, n. 1, p. 16, 2022.
- COSTA-COUTINHO, J. M.; JARDIM, M. A. G.; MIRANDA, L. S.; CASTRO, A. A. J. F. Climate change effects on marginal savannas from central-north Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, 2022.
- EUSTACE, A. *et al.* Protected areas network is not adequate to protect a critically endangered East Africa Chelonian: Modelling distribution of pancake tortoise, *Malacochersus tornieri* under current and future climates. **Plos one**, v. 16, n. 1, p. e0238669, 2021.
- FERNANDEZ, E. *et al.* 2021. *Pilocarpus microphyllus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T178713167A178713173. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T178713167A178713173.pt>. [Acessado em: 8 de Maio de 2023]
- FERREIRA, R.B. *et al.* Combining ecological niche models with experimental seed germination to estimate the effect of climate change on the distribution of endangered plant species in the Brazilian Cerrado. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 4, p. 283, 2022.
- FICK, S.E.; HIJMANS, R.J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**, 37(12), 4302–4315, 2017.
- FRAGNIÈRE, Y. *et al.* Climate change and alpine screes: no future for glacial relict *Papaver occidentale* (Papaveraceae) in Western Prealps. **Diversity**, v. 12, n. 9, p. 346, 2020.
- FREUND, Y.; SCHAPIRE, R. E. A decision-theoretic generalization of on-line learning and an application to boosting. **Journal of Computer and System Sciences**, v. 55, n. 1, p. 119-139, 1997.

- FREIMUTH, J. *et al.* Climate warming changes synchrony of plants and pollinators. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 289, n. 1971, p. 20212142, 2022.
- FRIEDMAN, J.H. Multivariate adaptive regression splines. **The Annals of Statistics**, v. 19, n. 1, p. 1-67, 1991.
- GOMES, V.H.F.; VIEIRA, I. C.; SALOMÃO, R. P.; TER STEEGE, H. Amazonian tree species threatened by deforestation and climate change. **Nature Climate Change**, v. 9, n. 7, p. 547-553, 2019.
- GÓMEZ-RUIZ, E.P.; LACHER J.R., T. E. Climate change, range shifts, and the disruption of a pollinator-plant complex. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 14048, 2019.
- GUISAN, A.; EDWARDS JR, T.C.; HASTIE, T. Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. **Ecological modelling**, v. 157, n. 2-3, p. 89-100, 2002.
- GUMIER-COSTA, F.; MCGRATH, D. G., PEZZUTI, J. C. B., HOMMA, A. K. O. Parcerias institucionais e evolução do extrativismo de jaborandi na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. **Sustentabilidade em Debate - Brasília**, v. 7, n.3, p. 91-111, 2016.
- GUMIER-COSTA, F.G. Os folheiros do jaborandi: organização, parcerias e seu lugar no extrativismo amazônico. 2012. 197 f. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido, Núcleo de Altos Estudos Amazônicos, Universidade Federal do Pará. 2012.
- GRABHER, C. A Governança e a Sustentabilidade do Extrativismo do Jaborandi na Amazônia e Transição Para o Cerrado a a Caatinga. 2015. 297 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural da Faculdade de Ciências Econômicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015. \
- HABIBULLAH, M. S.; DIN, B.H.; TAN, S.H; ZAHID, H. Impact of climate change on biodiversity loss: global evidence. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 1, p. 1073-1086, 2022.
- HASENACK, *et al.* Bioma Pampa: oportunidades e desafios de pesquisa para o desenvolvimento sustentável. *In*: VILELA, E. F.; CALLEGARO, G. M.; FERNANDES, G. W. Biomass e agricultura: oportunidades e desafios. Rio de Janeiro: ABC, 2019. Disponível em: <http://www.abc.org.br/wp-content/uploads/2019/11/Livro-Biomass-e-Agricultura-Site.pdf>. Acessado em 31 de janeiro de 2022.
- HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R. Generalized additive models for medical research. **Statistical methods in medical research**, v. 4, n. 3, p. 187-196, 1995.
- HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; BUJA, A. Flexible discriminant analysis by optimal scoring. **Journal of the American statistical association**, v. 89, n. 428, p. 1255-1270, 1994.
- HOMMA, A.K.O. Extrativismo ou plantio: recuperar o tempo perdido. *In*: FÓRUM Florestas, gestão e desenvolvimento: opções para a Amazônia. Belém, PA: CIFOR, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Produção da extração vegetal e silvicultura 2021**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/16/0?localidade2=15&localidade1=21> [Acessado em 13 de Janeiro de 2023]

IGAWA, T.K.; TOLEDO, P. M. de; ANJOS, L.J.S. Climate change could reduce and spatially reconfigure cocoa cultivation in the Brazilian Amazon by 2050. **Plos one**, v. 17, n. 1, p. e0262729, 2022.

JAIN, N.; VERMA, A.; JAIN, N. Formulation and investigation of pilocarpine hydrochloride niosomal gels for the treatment of glaucoma: intraocular pressure measurement in white albino rabbits. **Drug delivery**, v. 27, n. 1, p. 888-899, 2020.

JOMBART, T. *et al.* **Adegenet**: exploratory analysis of genetic and genomic data. R package version 2.1.10. 2023.

JHA, K. K.; JHA, R. Study of vulture habitat suitability and impact of climate change in Central India using MaxEnt. **Journal of Resources and Ecology**, v. 12, n. 1, p. 30-42, 2021.

KOLANOWSKA, M.; MICHALSKA, E.; KONOWALIK, K. The impact of global warming on the niches and pollinator availability of sexually deceptive orchid with a single pollen vector. **Science of The Total Environment**, v. 795, p. 148850, 2021.

KONG, F. *et al.* Assessing the impact of climate change on the distribution of *Osmanthus fragrans* using Maxent. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 34655-34663, 2021.

LIMA, D.F. *et al.* Seasonal change in main alkaloids of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth), an economically important species from the Brazilian flora. **Plos one**, v. 12, n. 2, p. e0170281, 2017.

LIU, C.; WHITE, M.; NEWELL, G. Measuring and comparing the accuracy of species distribution models with presence–absence data. **Ecography**, v. 34, n. 2, p. 232-243, 2011.

MARQUES, M. E. T.; DA COSTA, J. P. C. Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*). Boletim técnico da Embrapa CPATU 27, 1–4. 1994.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil. Rio de Janeiro: CNCFlora, Centro Nacional de Conservação da Flora.** 2013. 1100 f.

MARGROVE, J.A. *et al.* Impacts of an extreme precipitation event on dipterocarp mortality and habitat filtering in a Bornean tropical rain forest. **Biotropica**, v. 47, n. 1, p. 66-76, 2015.

MITHUN, V.; PRADEEP KUMAR, S.; PRADEEP, N. S. Conservation of RET Plants: Strategies and Plans. In: **Conservation and Sustainable Utilization of Bioresources.** Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 353-372.

MONTEIRO, W. P. *et al.* Genetic diversity and structure of an endangered medicinal plant species (*Pilocarpus microphyllus*) in eastern Amazon: implications for conservation. **Conservation Genetics**, v. 23, n. 4, p. 745-758, 2022.

MOREIRA, R. K. V. P. P., LAMEIRA, O. A.; CAMPELO, M. F.; RAMIRES, A. C. S. Estudo fenológico do germoplasma de *Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth correlacionado com elementos climáticos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e7710514626-e7710514626, 2021.

NASCIMENTO, D.T. F.; NOVAIS, G.T. Clima do Cerrado: dinâmica atmosférica e características, variabilidades e tipologias climáticas. **Eliséé**, v. 9, n. 2, p. e922021, 2020.

- NIC LUGHADHA, E. *et al.* Extinction risk and threats to plants and fungi. **Plants, People, Planet**, v. 2, n. 5, p. 389-408, 2020.
- NOBRE, C.A. *et al.* Características do clima amazônico: Aspectos principais. **Amaz. Glob. Chang**, p. 149-162, 2009.
- NOBRE, C.; ARIEIRA, J.; NASCIMENTO, N. **Amazonian forest**: The products of agroecological systems. 2021. Disponível em: <https://publications.iadb.org/publications/english/document/Amazonian-Forest-The-Products-of-Agroecological-Systems-Considerations-about-the-Natural-Forest-and-Economic-Exploitation-for-its-Conservation-and-How-to-Develop-Sustainable-Agroforestry-Systems-that-Induce-the-Reduction-of-Deforestation.pdf>. [Acessado em 22 de fevereiro de 2023]
- PANJA, S.; PODDER, A.; HOMECHAUDHURI, S. Modeling the climate change impact on the habitat suitability and potential distribution of an economically important hill stream fish, *Neolissochilus hexagonolepis*, in the Ganges–Brahmaputra basin of Eastern Himalayas. **Aquatic Sciences**, v. 83, n. 4, p. 66, 2021.
- PARK, Il-Kook; PARK, D.; BORZÉE, A. Defining conservation requirements for the Suweon Treefrog (*Dryophytes suweonensis*) using species distribution models. **Diversity**, v. 13, n. 2, p. 69, 2021.
- PATTERSON, N.; PRICE, A.L.; REICH, D. Population structure and eigenanalysis. **PLoS genetics**, v. 2, n. 12, p. e190, 2006.
- PATNI, B. *et al.* Alarming influence of climate change and compromising quality of medicinal plants. **Plant Physiology Reports**, p. 1-10, 2021.
- PETERSON, A. Townsend *et al.* ENM2020: a free online course and set of resources on modeling species' niches and distributions. **Biodiversity Informatics**, v. 17, 2022.
- PETERSON, A.T. *et al.* **Ecological niches and geographical distributions**. Princeton, Nova Jersey: Princeton University Press, 2011.
- PINHEIRO, C.U.B. Extractivism, cultivation and privatization of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holm.; Rutaceae) in Maranhão, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 2, p. 141-150, 2002.
- PINHEIRO, C. U. B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): a wild species and its rapid transformation into a crop. **Economic Botany**, p. 49-58, 1997.
- PIRANI, J.R.; DEVECCHI, M. F. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Rutaceae. **Rodriguésia**, v. 69, p. 209-217, 2018.
- PIRANI, J.R. **Pilocarpus** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB882>. Acessado em 13 de janeiro de 2023.
- PHILLIPS, S.J.; ANDERSON, R.P.; SCHAPIRE, R.E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. **Ecological modelling**, v. 190, n. 3-4, p. 231-259, 2006.
- RANA, S.K. *et al.* Climate-change threats to distribution, habitats, sustainability and conservation of highly traded medicinal and aromatic plants in Nepal. **Ecological Indicators**, v. 115, p. 106435, 2020.

- RIBEIRO, R.M. *et al.* Global warming decreases the morphological traits of germination and environmental suitability of *Dipteryx alata* (Fabaceae) in Brazilian Cerrado. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, p. 446-453, 2019.
- RIVERA, J.A.; ARNOULD, G. Evaluation of the ability of CMIP6 models to simulate precipitation over Southwestern South America: Climatic features and long-term trends (1901–2014). **Atmospheric Research**, v. 241, p. 104953, 2020.
- RULL, V. Biodiversity crisis or sixth mass extinction? Does the current anthropogenic biodiversity crisis really qualify as a mass extinction?. **EMBO reports**, v. 23, n. 1, p. e54193, 2022.
- SANTOS, A.P.; MORENO, P.R. H. *Pilocarpus* spp.: A survey of its chemical constituents and biological activities. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 40, p. 116-137, 2004.
- SILLERO, N.; CAMPOS, J. C., ARENAS-CASTRO, S.; BARBOSA, A. M. A curated list of R packages for ecological niche modelling. **Ecological Modelling**, v. 476, p. 110242, 2023.
- SOUZA-FILHO, P. W. M. *et al.* Four decades of land-cover, land-use and hydroclimatology changes in the Itacaiúnas River watershed, southeastern Amazon. **Journal of environmental management**, v. 167, p. 175-184, 2016.
- SHARMA, Munish *et al.* Changing scenario of medicinal plants diversity in relation to climate changes: A review. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 4389-4400, 2020.
- SHEN, T.; YU, H.; WANG, Yuan-Zhong. Assessing the impacts of climate change and habitat suitability on the distribution and quality of medicinal plant using multiple information integration: take *Gentiana rigescens* as an example. **Ecological Indicators**, v. 123, p. 107376, 2021.
- SKORUPA, L.A. Espécies de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) da Amazônia brasileira. **Acta Amazonica**, 30(1), 59–59, 2000.
- SKORUPA, L.A.; PIRANI, José Rubens. Revisão taxonômica de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae). 1996.
- SOLOMON, A.M.; KIRILENKO, A.P. Climate change and terrestrial biomass: what if trees do not migrate? **Global Ecology and Biogeography Letters**, p. 139-148, 1997.
- SRIVASTAVA, M.; MISRA, P. Climate change: impact on plants. **Dynamics of ecosystem and climate change in India. New Delhi (India): Serials Publications Pvt**, p. 160-174, 2018.
- STEYN, H.M. *et al.* Notes on the phytogeography and conservation status of the genus *Acanthopsis* (Acantheae, Acanthaceae). **Phytotaxa**, v. 415, n. 4, p. 157-178, 2019.
- TABARELLI, M. *et al.* Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. **Ciência e Cultura**, v. 70, n. 4, p. 25-29, 2018.
- TIAN, P.; LIU, Y., SUI, M.; OU, J. Prediction of Potential Habitats of *Zanthoxylum armatum* DC. and Their Changes under Climate Change. **Sustainability**, v. 14, n. 19, p. 12422, 2022.
- TOMAZ, J.S. *et al.* Prediction of the natural distribution, habitat and conservation of *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr. in response to global climate change. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 52, 2022.

THUILLER, W. *et al.* Biomod2. Ensemble Platform for Species Distribution Modeling. [s. L.]: CRAN R PACKAGE, 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/biomod2/biomod2.pdf> . Acessado em 20 de Janeiro de 2023.

THUILLER, W. *et al.* BIOMOD—a platform for ensemble forecasting of species distributions. **Ecography**, v. 32, n. 3, p. 369-373, 2009.

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern applied statistics with S-PLUS**. Springer Science & Business Media, 2013.

ZURELL, D. *et al.* A standard protocol for reporting species distribution models. **Ecography**, v. 43, n. 9, p. 1261-1277, 2020.

WAGENSOMMER, R.P.; VENANZONI, R. *Geranium lucarinii* sp. nov. and re-evaluation of *G. kikianum* (Geraniaceae). **Phytotaxa**, v. 489, n. 3, p. 252–262-252–262, 2021.

WANI, B.A. *et al.* Habitat suitability, range dynamics, and threat assessment of *Swertia petiolata* D. Don: a Himalayan endemic medicinally important plant under climate change. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 1, p. 214, 2023.

CAPÍTULO 4 CONCLUSÃO GERAL

4.1 Resultados Chave: Impactos e Implicações

Sabe-se, que o jaborandi, teve a diminuição nas suas populações e perda da diversidade, devido ao extrativismo desordenado, nas últimas décadas, a qual a colocou em perigo de extinção. Hoje, o estado do Pará detém uma das maiores reservas naturais do jaborandi. E, o extrativismo das folhas e sementes, nessa região, possui grande importância para a população local, agregando melhoria na renda da população que vive dessa atividade, a qual tem crescido nos últimos anos.

Mediante a diminuição da diversidade, das áreas de ocorrência da espécie e as previsões das mudanças climáticas futuras, essa pesquisa gerou informações importantes sobre a estrutura e diversidade de uma planta medicinal, a qual possui um alto potencial socioambiental e econômico para o Brasil e para o mundo, visto que, a espécie possui a *pilocarpina*, princípio ativo que é utilizada na fabricação de colírios para tratamento de doenças. Além disso, nesse estudo, buscou-se entender como as mudanças climáticas futuras podem impactar as principais áreas de ocorrência do jaborandi e ajudou a delinear áreas adequadas para a espécie, contribuindo para a conservação do jaborandi ao longo das próximas décadas.

4.2 Conclusões de forma integrada

As discussões acerca da diversidade genética foram intensificadas nos últimos anos e, se tornaram essenciais no planejamento de conservação de muitas espécies. Com base nisso e considerando as hipóteses apresentadas anteriormente, a seguir, estas, agora, podem ser reanalisadas conforme os resultados e discussões expostos nos Capítulos 1 e 2.

A primeira hipótese (A) foi a seguinte: *A coleta excessiva das folhas do jaborandi, praticadas nas últimas décadas, representa um risco a espécie na Flona de Carajás/PA.* Conforme os resultados obtidos nessa pesquisa, pode-se concluir que a hipótese não corrobora. Diferente do que se esperava encontrar, os resultados demonstraram que na região de Carajás, há a presença de 4 populações bem definidas e alta diversidade, mesmo com o extrativismo contínuo na região. Além disso, foi possível propor, através desse estudo, um número mínimo

de indivíduos para delinear e construir um banco de germoplasma para esta planta medicinal ameaçada, assegurando a conservação da diversidade genética em longo prazo.

Diante dos resultados apontados, pôde-se ainda destacar que o extrativismo na região vem sendo feito de forma sustentável, visto que, depois de muitos anos de colheita das folhas, encontrou-se alta diversidade genética para o jaborandi na região. Esse resultado é de suma importância para as comunidades locais que têm nessa atividade uma fonte de renda e que, em função das poucas oportunidades de trabalho na região, têm o seu sustento proveniente da floresta em pé.

De acordo com a segunda hipótese (B), a qual é a seguinte: *As mudanças climáticas futuras influenciarão nas áreas de ocorrência do jaborandi*. Com relação a hipótese B, entende-se que ela é verdadeira. Os resultados dessa pesquisa mostraram diminuição em áreas adequadas para o jaborandi mediante as mudanças climáticas no futuro. Entre essas regiões destacam-se as regiões de transição entre os biomas Amazônia e Cerrado e, também no bioma Caatinga, a qual pôde-se observar o desaparecimento por completo das áreas da espécie nas próximas décadas (2020 a 2040). Em contrapartida, o estudo demonstrou uma futura expansão e aumento na adequabilidade de habitat na região Amazônica, mais precisamente, no sudeste do Pará, a qual faz parte do mosaico de áreas protegidas e onde ainda se têm populações naturais de *P. microphyllus*.

Sendo assim, o conhecimento e as informações citadas acima sobre as áreas adequadas, para o *P. microphyllus*, devem ser levadas em consideração pelos tomadores de decisões como forma de diminuir os impactos das mudanças climáticas no futuro. Além disso, devido o jaborandi possuir uma importância socioeconômica para várias famílias, relacionado a atividade extrativista, destaca-se a importância da implementação de conservação e manejo sustentável, objetivando contribuir com a elaboração de políticas públicas que auxiliem a conservação da espécie. Desse modo, sugere-se a criação de programas de conservação *in situ* e *ex situ* (banco de germoplasma) para salvaguardar a diversidade genética das populações desta espécie medicinal ameaçada de extinção.

Em vista disso, tal pesquisa contribuiu para o enriquecimento do entendimento sobre a diversidade e estrutura genética da espécie e, a importância da extração sustentável do jaborandi, feito pelos folheiros, na região de Carajás. Além de, contribuir com as informações

para identificar áreas prioritárias e, desenvolver o conhecimento para propor estratégias para a conservação *ex situ* e *in situ* para essa espécie ameaçada.

4.3 Propriedades para pesquisas futuras

Algumas dificuldades foram encontradas ao longo deste estudo. O primeiro destes, foi a questão de encontrar poucos estudos publicados em revistas científicas sobre a espécie, principalmente, relacionado a diversidade e estrutura genética para o *P. microphyllus*. A maioria dos estudos encontrados, ainda estão em teses, e os que são encontrados em revistas científicas, já têm bastante tempo de publicação.

Além disso, dados atuais sobre a produtividade do extrativismo do jaborandi em Carajás e em outras regiões, ainda são escassos. Algumas informações são encontradas no banco de dados do IBGE (como foi demonstrado no referencial teórico), porém outras, como: qual valor mensal ou anual um folheiro pode estar recebendo através dessa atividade, não são encontrados, ou os dados que existem, estão em trabalhos/teses com mais de 5 anos realizados. Ter essas informações mais atuais, são de extrema importância, pois servirão como base para delinear estratégias de conservação, bem como, contribuir na manutenção dessa atividade extrativista ao longo das próximas décadas.

Outra limitação, que encontrou-se nesse estudo, foi a ausência de dados de pontos de ocorrência da espécie nos bancos de dados existentes. Boa parte dos pontos estavam duplicados ou estavam com erros de digitação. Algumas informações também estavam incorretas, não se tratando de locais onde a espécie foi e é realmente encontrada, conforme a literatura. Então, essa falta de informação pode ser considerada um fator “limitante” para pesquisas futuras sobre a espécie, ou até mesmo, trazer resultados enviesados.

Mas, apesar, dessas limitações, essa tese traz informações significativas e atuais, para que os tomadores de decisões possam traçar estratégias de conservação para a espécie conforme o que se encontrou nesse estudo. As metodologias utilizadas podem ser aplicadas para estudar a diversidade e estrutura genética, bem como, investigar o impacto das mudanças climáticas em espécies de plantas que estão sob ameaça de extinção. Além disso, os resultados também fornecem informações relevantes sobre as áreas adequadas para *P. microphyllus* no futuro próximo. Mediante a isso, recomenda-se: a) continuar monitorando a diversidade genética do jaborandi na FLONA; b) manter, apoiar e, talvez, melhorar o modelo extrativista que é praticado

na região de Carajás; c) delinear estratégias de conservação *ex situ* e *in situ* devido os impactos climáticos esperados para o futuro, e por fim; d) desenvolver pesquisas técnico-científico para ajudar a minimizar os impactos do clima sobre as populações do jaborandi, bem como, manter a produtividade das folhas nas próximas décadas.

4.4 Considerações Finais

Portanto, no contexto da diversidade genética e dos impactos das mudanças climáticas futuras sobre *P. microphyllus*, os resultados encontrados são considerados, extremamente, importantes. Apesar, das limitações, como foi descrita acima, acredita-se que a tese gerou informações precisas e significativas para delinear estratégias de conservação para a espécie. As metodologias utilizadas, nesse trabalho, foram as que estão sendo mais utilizadas pela comunidade científica nos últimos anos. Mediante a isso, espera-se que, os resultados produzidos nesse estudo, possam ser analisados e utilizados pelos tomadores de decisões e pelas partes interessadas na conservação e sustentabilidade da espécie.

Por conseguinte, é importante ressaltar que, estudos, que estivessem sido publicados em revistas científicas a qual tratassem do impacto das mudanças climáticas sobre *P. microphyllus*, até onde sabemos, o estudo que foi realizado nessa tese, é o segundo a qual esse tema é levado em consideração. Além disso, a informação sobre diversidade e estrutura genética pode ajudar a delinear estratégias de conservação *ex situ* apropriadas, bem como, trazer informações para manter toda a cadeia de produção do jaborandi funcionando nos próximos anos. Diante disso, estudos futuros sobre esta espécie, que possui um alto potencial ambiental, econômico e social, precisam ser desenvolvidos, visto que, acredita-se que os resultados encontrados a partir dessa tese possam ser considerados como ponto de partida para outras publicações que serão elaborados nos próximos anos.

REFERÊNCIAS

- ABIQUIFI. Os 10 principais insumos farmacêuticos exportados por códigos específicos da TEC. [S.l.]: Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica e de Insumos Farmaceuticos. 2020. Disponível em: <http://www.abiquifi.org.br/mercado/mes-a-mes>. Acessado em: 13 de dezembro de 2021.
- ABREU, I.N. *et al.* Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, v. 77, n. 03, p. 293-300, 2011.
- AGWU, O.P. *et al.* Impact of climate on ecology and suitable habitat of *Garcinia kola* heckel in Nigeria. **Trees, Forests and People**, v. 1, p. 100006, 2020.
- ALEIXO, I. *et al.* Amazonian rainforest tree mortality driven by climate and functional traits. **Nature Climate Change**, v. 9, n. 5, p. 384-388, 2019.
- ALI, S. *et al.* Flooding tolerance in plants: from physiological and molecular perspectives. **Brazilian Journal of Botany**, p. 1-16, 2022.
- ALMEIDA, D.R.A. *et al.* Persistent effects of fragmentation on tropical rainforest canopy structure after 20 yr of isolation. **Ecological Applications**, v. 29, n. 6, p. e01952, 2019.
- AMARAL, G. C. *et al.* *Pilocarpus microphyllus* seedling growth threatened by climate change: an ecophysiological approach. **Theoretical and Applied Climatology**, p. 1-15, 2022.
- AMARAL, G. C. *et al.* Ecophysiology of *Pilocarpus microphyllus* in response to temperature, water availability and vapour pressure deficit. **Trees**, v. 35, p. 543-555, 2021.
- AMAZ. **Relatório de impacto 2022**. Brasília,DF, 2022. 72 p. Disponível em: https://amaz.org.br/wp-content/uploads/2022/12/20221204_AMAZ_RELATORIO2022_V3-5-1.pdf. Acessado em 20 de março de 2023.
- ANDEREGG, W. R.L. *et al.* Widespread drought-induced tree mortality at dry range edges indicates that climate stress exceeds species' compensating mechanisms. **Global Change Biology**, v. 25, n. 11, p. 3793-3802, 2019.
- APPELHANS, M. S. *et al.* A new subfamily classification of the Citrus family (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. **Taxon**, v. 70, n. 5, p. 1035-1061, 2021.
- ARAGÃO, L. E.O.C. *et al.* Environmental change and the carbon balance of Amazonian forests. **Biological Reviews**, v. 89, n. 4, p. 913-931, 2014.
- ARMSTRONG, W.; DREW, M. C. Root growth and metabolism under oxygen deficiency. *In*: WAISEL, Yoav *et al.* (ed.). **Plant roots**. 3rd ed. CRC Press, 2002. p. 1139-1187.
- BANNITZ, F. *et al.* Diagnóstico da cooperativa dos extrativistas da flona de Carajás – Coex-Carajás. [Carajás]: Instituto de Sócio Economia Solidária, 2015. 81p.
- BAUMAN, H.; SMITH, T.; YEARSLEY, C. Plants in peril: climate crisis threatens medicinal and aromatic plants. **HerbalGram**, v.124, p.44–59, 2019.
- BAKER, J.C.A.; SPRACKLEN, D.V. Climate benefits of intact Amazon forests and the biophysical consequences of disturbance. **Frontiers in Forests and Global Change**, e 47, 2019.

- BARRANDEGUY, M.E; GARCÍA, M.V. The sensitiveness of expected heterozygosity and allelic richness estimates for analyzing population genetic diversity. *In: MAIA, R.T.; CAMPOS, M.A. (ed.). Genetic variation*. London: IntechOpen, 2021. Chapter 4.
- BARIK, S. K.; BEHERA, M. D.; ADHIKARI, D. Realizing certainty in an uncertain future climate: modeling suitable areas for conserving wild *Citrus* species under different change scenarios in India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 12, e 864, 2022.
- BARTLETT, K.B. *et al.* Beyond the usual climate? Factors determining flowering and fruiting phenology across a genus over 117 years. **American Journal of Botany**, 2023. <https://doi.org/10.1002/ajb2.16188>.
- BELLANTHUDAWA, B. K. A. *et al.* Biophysical and biochemical features' feedback associated with a flood episode in a tropical river basin model. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 4, e 504, 2023.
- BEN MARIEM, S. *et al.* Climate change, crop yields, and grain quality of C3 cereals: a meta-analysis of [CO₂], temperature, and drought effects. **Plants**, v. 10, n. 6, e 1052, 2021.
- BLACKMORE, I. *et al.* The impact of seasonality and climate variability on livelihood security in the Ecuadorian Andes. **Climate Risk Management**, v. 32, e 100279, 2021.
- BRANDÃO, D.O. *et al.* The effects of Amazon deforestation on non-timber forest products. **Regional Environmental Change**, v. 21, n. 4, p. 1-13, 2021.
- BRANDÃO, D. O.; BARATA, L. E. S.; NOBRE, C. A. The Effects of Environmental Changes on Plant Species and Forest Dependent Communities in the Amazon Region. **Forests**, v. 13, n. 3, e 466, 2022.
- BROWNE, Greg T. *et al.* Flooding by California rivers results in walnut scion infections by species of *Phytophthora*. **Plant Health Progress**, v. 22, n. 3, p. 368-373, 2021.
- BROWN, M.B. *et al.* Using the Conservation Standards Framework to Address the Effects of Climate Change on Biodiversity and Ecosystem Services. **Climate**, v. 10, n. 2, e 13, 2022.
- 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, p. 64-71, 2009.
- CALDEIRA, C.F. *et al.* Sustainability of Jaborandi in the eastern Brazilian Amazon. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 15, n. 3, p. 161-171, 2017.
- CASTRO, J.de; HILL, R. D., STASOLLA, C.; BADEA, A. Waterlogging stress physiology in barley. **Agronomy**, v. 12, n. 4, e 780, 2022.
- COVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY-CBD. **Global strategy for plant conservation**. 2011. Disponível em: <https://www.cbd.int/gspc/targets.shtml>. Acessado em 7 de abril de 2023.
- COVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY-CBD. **Plano estratégico para a biodiversidade 2011-2020, incluindo as metas de biodiversidade de AICHI**. 2020. Disponível em: <https://www.cbd.int/sp/targets/>. Acessado em 7 de abril de 2023.
- CHAUDHRY, S.; SIDHU, G. P. S. Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: a comprehensive review. **Plant Cell Reports**, v. 41, n. 1, p. 1-31, 2022.

- CLAPP, J.; NEWELL, P.; BRENT, Z.W. The global political economy of climate change, agriculture and food systems. **The Journal of Peasant Studies**, v. 45, n. 1, p. 80-88, 2018.
- COSTA, F.G. **Extrativismo de jaborandi na região de Carajás: histórico, situação atual e perspectivas**. Monografia (Especialização) – Curso em Gestão e Manejo Ambiental em Sistemas Florestais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005. p. 41.
- COSTA, F.G. **Os folheiros do jaborandi: organização, parcerias e seu lugar no extrativismo amazônico**. 2012. 197f. Tese (Doutorado) - Curso em Ciências de Desenvolv. Socioambiental, Núcleo Altos Estud. Amaz., Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2012.
- COHN, A.S. *et al.* Forest loss in Brazil increases maximum temperatures within 50 km. **Environmental Research Letters**, v. 14, n. 8, e 084047, 2019.
- CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v. 144, n. 4, p. 2001-2014, 1996.
- CUNHA, A.P.M.A. *et al.* Extreme drought events over Brazil from 2011 to 2019. **Atmosphere**, v. 10, n. 11, e 642, 2019.
- CRUZ, D.C.da *et al.* An overview of forest loss and restoration in the Brazilian Amazon. **New Forests**, v. 52, n. 1, p. 1-16, 2021.
- DALAPICOLLA, J. *et al.* Conservation implications of genetic structure in the narrowest endemic quillwort from the Eastern Amazon. **Ecology and Evolution**, v. 11, n. 15, p. 10119-10132, 2021.
- DEGIRMENCI, F. O.; ACAR, P.; KAYA, Z. Consequences of habitat fragmentation on genetic diversity and structure of *Salix alba* L. populations in two major river systems of Turkey. **Tree Genetics & Genomes**, v. 15, p. 1-13, 2019.
- JONG, P.de *et al.* Estimating the impact of climate change on wind and solar energy in Brazil using a South American regional climate model. **Renewable energy**, v. 141, p. 390-401, 2019.
- KORT, H. de. *et al.* Life history, climate and biogeography interactively affect worldwide genetic diversity of plant and animal populations. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 516, 2021.
- DONG, J. *et al.* Effects of elevated CO₂ on nutritional quality of vegetables: a review. **Frontiers in plant science**, v. 9, e 924, 2018.
- FENG, S. *et al.* Genomic analysis reveals the genetic diversity, population structure, evolutionary history and relationships of Chinese pepper. **Horticulture research**, v. 7, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00376-z>.
- FERNÁNDEZ, N. *et al.* Essential biodiversity variables: Integrating in-situ observations and remote sensing through modeling. **Remote sensing of plant biodiversity**, p. 485-501, 2020.
- FINE, M. *et al.* Coral reefs of the Red Sea—Challenges and potential solutions. **Regional Studies in Marine Science**, v. 25, p. 100498, 2019.
- FISHER, R. A. **The genetical theory of natural selection**. Oxford: Clarendon Press, 1930. 318p.

FONTES, C.G. *et al.* Dry and hot: the hydraulic consequences of a climate change–type drought for Amazonian trees. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 373, n. 1760, e 20180209, 2018.

FOUET, O. *et al.* Collection of native *Theobroma cacao* L. accessions from the Ecuadorian Amazon highlights a hotspot of cocoa diversity. **Plants, People, Planet**, v. 4, n. 6, p. 605-617, 2022.

FLOWER, C.E. *et al.* Optimizing conservation strategies for a threatened tree species: *In situ* conservation of white ash (*Fraxinus americana* L.) genetic diversity through insecticide treatment. **Forests**, v.9, n.4, e 202, 2018. <https://doi.org/10.3390/f9040202>.

GARCIA, M.N. *et al.* Importance of hydraulic strategy trade-offs in structuring response of canopy trees to extreme drought in central Amazon. **Oecologia**, v. 197, p. 13-24, 2021.

GARCIA, W. S. *et al.* Demanda de produtos florestais não madeireiros: o caso do Açaí e da Castanha-do-Pará. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 4, p. 1039-1059, 2018.

GIATTI, O. F. *et al.* Potencial socioeconômico de produtos florestais não madeireiros na reserva de desenvolvimento sustentável do Uatumã, Amazonas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 59, n.3, e229510, 2021.

GOMES, M.V.F. *et al.* A resposta produtiva do pequi às condições climáticas em uma região do Cariri Cearense. **Observatório de la Economía Latinoamericana**, v. 21, n. 6, p. 4404-4426, 2023.

GUAN, Bicaí *et al.* The Effects of Climate Change on Landscape Connectivity and Genetic Clusters in a Small Subtropical and Warm-Temperate Tree. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 671336, 2021.

GUMIER-COSTA, F.; JESUS, C. C. Levantamento de ocorrências de jaborandi, *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardl., no interior da Floresta Nacional de Carajás, Pará e sua relação com a mineração o. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 59, 2007, Belém. **Resumos [...]** Belém, 2007. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/59ra/> Acessado em 25 de abril de 2023.

GUMIER-COSTA, F.; MCGRATH, D. G., PEZZUTI, J. C. B., HOMMA, A. K. O. Parcerias institucionais e evolução do extrativismo de jaborandi na Floresta Nacional de Carajás, Pará, Brasil. **Sustentabilidade em Debate**, Brasília,DF, v. 7, n.3, p. 91-111, 2016.

GSPC. **Estratégia global para a conservação de plantas**. Rio de Janeiro; Rede Brasileira de Jardins Botânicos; Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, BGCI, 2006. 14 f. Disponível em: https://www.bgci.org/files/All/Key_Publications/gspc_portugues.pdf Acessado em 14 de abril de 2023.

GRABHER, C. **A Governança e a sustentabilidade do extrativismo do Jaborandi na Amazônia e transição para o cerrado e a caatinga**. 2015. 297 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural da Faculdade de Ciências Econômicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

GRAUDAL, L. *et al.* **Indicators of the genetic diversity of trees – state, pressure, benefit and response: state of the world’s forest genetic resources – thematic study**. Rome: FAO, 2020.

- GRIFFITH, M.P. *et al.* Can a botanic garden metacollection better conserve wild plant diversity? A case study comparing pooled collections with an ideal sampling model. **International Journal of Plant Sciences**, v.181, n.5, p. 485–496, 2020.
- GROPPO, M.; AFONSO, L.F.; PIRANI, J.R. A review of systematics studies in the Citrus family (Rutaceae, Sapindales), with emphasis on American groups. **Brazilian Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 181-200, 2022.
- HABIBULLAH, M. S.; DIN, B.H.; TAN, S.H; ZAHID, H. Impact of climate change on biodiversity loss: global evidence. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 1, p. 1073-1086, 2022.
- HARDISTY, A.R. *et al.* The bari manifesto: an interoperability framework for essential biodiversity variables. **Ecological informatics**, v. 49, p. 22-31, 2019.
- HARMON, L.J.; BRAUDE, Stanton. Conservation of small populations: effective population sizes, inbreeding, and the 50/500 rule. **An introduction to methods and models in ecology, evolution, and conservation biology**, p. 125-138, 2010.
- HATFIELD, J.L.; PRUEGER, J.H. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. **Weather and climate extremes**, v. 10, p. 4-10, 2015.
- HELYAR, S.J. *et al.* Application of SNPs for population genetics of nonmodel organisms: new opportunities and challenges. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, p. 123-136, 2011.
- HENLY, L.; WENTWORTH J. **Post (Parliamentary Office of Science and Technology) brief 41, biodiversity indicators**. UK: Parliament, 2021.
- HERCULANO, F.E.B. **Produção industrial de cosméticos: o protagonismo da biodiversidade vegetal da Amazônia**. 2013. 145 f. Tese (Doutorado) - Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- HOBAN, S. *et al.* Global genetic diversity status and trends: towards a suite of Essential Biodiversity Variables (EBVs) for genetic composition. **Biological Reviews**, v. 97, n. 4, p. 1511-1538, 2022.
- HOBAN, S. *et al.* Global commitments to conserving and monitoring genetic diversity are now necessary and feasible. **BioScience**, v. 71, n. 9, p. 964-976, 2021.
- HOBAN, S. *et al.* Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. **Biological Conservation**, v.248, e 108654, 2020.
- HOBAN, S.; KALLOW, S.; TRIVEDI, C. Implementing a new approach to effective conservation of genetic diversity, with ash (*Fraxinus excelsior*) in the UK as a case study. **Biol. Conserv.**, v.225, p.10–21. 2018.
- HOBAN, S.; STRAND, A. *Ex situ* seed collections will benefit from considering spatial sampling design and species' reproductive biology. **Biol. Conserv.**, 187:182–191. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.023>
- RODGER, Y.S. *et al.* Evolutionary history and genetic connectivity across highly fragmented populations of an endangered daisy. **Heredity**, v.126, n.5, p.846–858, 2021.

HOMMA, A.K.O. Extrativismo ou plantio: recuperar o tempo perdido. *In*: FÓRUM FLORESTAS, GESTÃO E DESENVOLVIMENTO: OPÇÕES PARA A AMAZÔNIA, 2004, Belém, PA. **Anais[...]** Belém: CIFOR, 2004.

HOMMA, A.K.O. **Extrativismo de folhas de jaborandi no município de Parauapebas, estado do Pará**. Belém: Embrapa, 2003. 30p. (Documento, 184).

HOMMA, A.K.O. *et al.* Environmental sustainable in agriculture and food security in the Brazilian Amazon. Rio de Janeiro: ISEE, 2012. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/952848/1/105homma.pdf>. Acesso em: 20 de janeiro de 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Produção da extração vegetal e silvicultura 2021**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE-ICMBio. **Extrativismo e conservação da biodiversidade** - aprendizados de unidades de conservação de uso sustentável na Amazônia. Brasília, DF, 2017. 112 p. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/estrativismo_e_conservacao_da_biodiversidade_amazonia.pdf. Acessado em 21 de fevereiro de 2022.

INTERGOVERNMENTAL SCIENCE-POLICY PLATFORM ON BIODIVERSITY AND ECOSYSTEM SERVICES-IPBES. **Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services**. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. S. 2019.

PAINEL INTERGOVERNAMENTAL SOBRE MUDANÇAS CLIMÁTICAS-IPCC. **Climate change 2021: the physical science basis**. 2021. Disponível em: https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_Full_Report.pdf. Acessado em: 17 de fev. 2022.

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.

JAIN, N.; VERMA, A.; JAIN, N. Formulation and investigation of pilocarpine hydrochloride niosomal gels for the treatment of glaucoma: intraocular pressure measurement in white albino rabbits. *Drug delivery*, v. 27, n. 1, p. 888-899, 2020.

JENKINS, K.; WARREN, R. Quantifying the impact of climate change on drought regimes using the Standardised Precipitation Index. *Theoretical and Applied Climatology*, v. 120, n. 1, p. 41-54, 2015.

JORDÃO, P. **Natureza e Meio ambiente: por que a Amazônia é vital para o mundo?**. DW-Made for Minds, 2019. Disponível em: <https://www.dw.com/pt-br/por-que-a-amaz%C3%B4nia-%C3%A9-vital-para-o-mundo/a-40315702>. Acessado em 18 de fevereiro de 2022.

JOST, L. *et al.* Differentiation measures for conservation genetics. *Evolutionary Applications*, v.11, n.7, p. 1139–1148, 2018.

- JUNG, T. *et al.* Canker and decline diseases caused by soil-and airborne Phytophthora species in forests and woodlands. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 40, n. 1, p. 182-220, 2018.
- KAUR, G. *et al.* Impacts and management strategies for crop production in waterlogged or flooded soils: A review. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 3, p. 1475-1501, 2020.
- KARKI, M.B. Harnessing the potential of medicinal, aromatic and non-timber forest products for improving the livelihoods of pastoralists and farmers in himalayan mountains. *In*: RAJASEKHARAN, P.E.; WANI, S.H. (ed.). **Conservation and utilization of threatened medicinal plants**. [S.l.]: Springer, 2020. p. 93-106.
- KHAN, S. *et al.* Temperature Induced Flowering Phenology of *Olea ferruginea* Royle: A Climate Change Effect. **Sustainability**, v. 15, n. 8, e. 6936, 2023.
- KELLER, M. *et al.* Food security and climate change from a systems perspective: Community case studies from Honduras. **Climate and Development**, v. 10, n. 8, p. 742-754, 2018.
- KISSLING, W. D. *et al.* Building essential biodiversity variables (EBVs) of species distribution and abundance at a global scale. **Biological reviews**, v. 93, n. 1, p. 600-625, 2018.
- KAUR, G.; ZURWELLER, B.; MOTAVALLI, P. P.; NELSON, K. A. Screening corn hybrids for soil waterlogging tolerance at an early growth stage. **Agriculture**, v. 9, n. 2, p. 33, 2019.
- LASTRA LANDA, D.E.; GRADOS BUENO, C.V. "Climate change might have caused our small harvest": indigenous vulnerability, livelihoods, and environmental changes in lowland and high jungle indigenous communities in Peru. **Journal of Environmental Studies and Sciences**, v. 12, n. 2, p. 216-231, 2022.
- LAURANCE, W.F. *et al.* The future of the Brazilian Amazon. **Science**, v. 291, n. 5503, p. 438-439, 2001.
- LEE, H. K. *et al.* Prediction of plant phenological shift under climate change in South Korea. **Sustainability**, v. 12, n. 21, p. 9276, 2020.
- LEITE-FILHO, A.T.; PONTES, V. Y.de Sousa; COSTA, M. H. Effects of deforestation on the onset of the rainy season and the duration of dry spells in southern Amazonia. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, v. 124, n. 10, p. 5268-5281, 2019.
- LI, B. *et al.* Genetic diversity and population structure of endangered *Glehnia littoralis* (Apiaceae) in China based on AFLP analysis. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v.33, n.1, p.331–337, 2019.
- LIMA, D.F. *et al.* Seasonal change in main alkaloids of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth), an economically important species from the Brazilian flora. **Plos one**, v. 12, n. 2, e0170281, 2017.
- LIMA, R. B. de. *et al.* Valoração de componentes não madeireiros na Amazônia: metodologias de quantificação para a geração de renda. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 2, p. 561-591, 2020.
- LIU, Z. *et al.* Effect of off-season flooding on growth, photosynthesis, carbohydrate partitioning, and nutrient uptake in *Distylium chinense*. **PloS one**, v. 9, n. 9, e107636, 2014.

- MAIA, L. O. *et al.* Ayahuasca's therapeutic potential: What we know—and what not. **European Neuropsychopharmacology**, v. 66, p. 45-61, 2023.
- MALHI, Y. The productivity, metabolism and carbon cycle of tropical forest vegetation. **Journal of Ecology**, v. 100, n. 1, p. 65-75, 2012.
- MAMMADOVA, A. *et al.* Deforestation As a Systemic Risk. **The Case of Brazilian Bovine Leather. Forests**, v. 13, n. 2, e 233, 2022.
- MAKANJUOLA, B. O. *et al.* Effect of genomic selection on rate of inbreeding and coancestry and effective population size of Holstein and Jersey cattle populations. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 6, p. 5183-5199, 2020.
- MARENGO, J.A.; SOUZA JR, C. **Climate change: impacts and scenarios for the Amazon**. São Paulo, Brasil: University of São Paulo, 2018.
- MARENGO, J.A.; ESPINOZA, J.C. Extreme seasonal droughts and floods in Amazonia: causes, trends and impacts. **International Journal of Climatology**, v. 36, n. 3, p. 1033-1050, 2016.
- MARENGO, J. A. *et al.* Recent developments on the South American monsoon system. **International Journal of Climatology**, v. 32, n. 1, p. 1-21, 2012.
- MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: CNCFlora, Centro Nacional de Conservação da Flora. 2013. 1100 f.
- MARGROVE, J.A. *et al.* Impacts of an extreme precipitation event on dipterocarp mortality and habitat filtering in a Bornean tropical rain forest. **Biotropica**, v. 47, n. 1, p. 66-76, 2015.
- MIGUEL, L.M. **Uso sustentável da biodiversidade na Amazônia brasileira: experiências atuais e perspectivas das bioindústrias de cosméticos e fitoterápicos**. 2007. 160 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Geografia Humana, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MCDOWELL, N.G. *et al.* Mechanisms of woody-plant mortality under rising drought, CO₂ and vapour pressure deficit. **Nature Reviews Earth & Environment**, v. 3, n. 5, p. 294-308, 2022.
- MOURA, E. F. *et al.* Genetic diversity in a jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf.) germplasm bank assessed by RAPD markers. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 1-8, 2005.
- MONTEIRO, W. P. *et al.* Genetic diversity and structure of an endangered medicinal plant species (*Pilocarpus microphyllus*) in eastern Amazon: implications for conservation. **Conservation Genetics**, v. 23, n. 4, p. 745-758, 2022.
- MORAES, C.K.A *et al.* Diversidade socioproductiva associada ao manejo florestal madeireiro como alternativa de renda para comunidades agroextrativistas Santarém/PA. **Rev. Ciênc. Agrar.**, Belém, v. 63, p.1-10, 2020.
- MOREIRA, R.K.V.P.P. *et al.* Caracterização fenológica do jaborandi em relação à precipitação pluviométrica e temperatura média do ar. *In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CLIMATOLOGIA*, 8., 2019, Belém. **Anais[...]**. Belém: SIC, 2019.

- MUNIZ, F.H. Padrões de floração e frutificação de árvores da Amazônia Maranhense. **Acta Amazônica**, v. 38, p. 617-626, 2008.
- MUTINDA, E.S. *et al.* Comparative genomics, phylogenetics, biogeography, and effects of climate change on *toddalia asiatica* (L.) Lam.(Rutaceae) from Africa and Asia. **Plants**, v. 11, n. 2, p. 231, 2022.
- NAMBIAR, E.K.S. Tamm Review: Re-imagining forestry and wood business: pathways to rural development, poverty alleviation and climate change mitigation in the tropics. **Forest Ecology and Management**, v. 448, p. 160-173, 2019.
- NEAL, Will C.; JAMES, Elizabeth A.; BAYLY, Michael J. Phylogeography, classification and conservation of pink zieria (*Zieria veronicaea*; Rutaceae): influence of changes in climate, geology and sea level in south-eastern Australia. **Plant Systematics and Evolution**, v. 305, p. 503-520, 2019.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v.70, n.12, p. 3321-3323, 1973.
- NEI, M. *et al.* The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.
- NEPSTAD, D.C. *et al.* Interactions among Amazon land use, forests and climate: prospects for a near-term forest tipping point. **Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences**, v. 363, n. 1498, p. 1737-1746, 2008.
- NIC LUGHADHA, E. *et al.* Extinction risk and threats to plants and fungi. **Plants, People, Planet**, v. 2, n. 5, p. 389-408, 2020.
- NOBRE, A.D. The future climate of Amazonia, scientific assessment report. **Sponsored by CCST-INPE, INPA and ARA**. São José dos Campos Brazil, 2014.
- NOBRE, C.A.; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura**, v. 59, n. 3, p. 22-27, 2007.
- OLIVARES, B.O. *et al.* Fusarium wilt of bananas: a review of agro-environmental factors in the Venezuelan production system affecting its development. **Agronomy**, v. 11, n. 5, p. 986, 2021.
- OLIVEIRA, M. G. *et al.* Tree population structure in fragments of different sizes in the Eastern Amazon. **Environment, Development and Sustainability**, v. 24, n. 4, p. 5743-5763, 2022.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS-ONU. **Faltou o que foi tirado do site como título**. 2015. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>. Acessado em 20 de janeiro de 2023.
- OGUNKANMI, L.; MACCARTHY, D.S.; ADIKU, S. G.K. Impact of extreme temperature and soil water stress on the growth and yield of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Agriculture**, v. 12, n. 1, p. 43, 2022.
- PARCEIROS PELA AMAZÔNIA-PPA. **Relatório de impacto 2020 da do programa de aceleração da PPA**. 2020. Disponível em: https://ppa.org.br/wpcontent/uploads/2021/09/20210828_PPA_Boletim2020_VPUBLICO_fin al.pdf. Acessado em 15 de fevereiro de 2022.

- PARK, Sul-U. *et al.* Selection of flooding stress tolerant sweetpotato cultivars based on biochemical and phenotypic characterization. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 243-251, 2020.
- PEREIRA, H.M. *et al.* Essential biodiversity variables. **Science**, v. 339, n. 6117, p. 277-278, 2013.
- PEZESHKI, S. R.; DELAUNE, R. D. Soil oxidation-reduction in wetlands and its impact on plant functioning. **Biology**, v. 1, n. 2, p. 196-221, 2012.
- PINHEIRO, C.U.B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): a wild species and its rapid transformation into a crop. **Economic Botany**, p. 49-58, 1997.
- PINHEIRO, C.U.B. Extractivism, cultivation and privatization of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holm.; Rutaceae) in Maranhão, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 2, p. 141-150, 2002.
- PORTAL, T. *et al.* Photoprotective Activity of Plants Used for Skin Disorders by the Native Population from the Brazilian Amazon Basin: A Preliminary Study. **Pharmacognosy Research**, v. 15, n. 1, 2023.
- PORTER, John R. *et al.* **Food security and food production systems**. [S.l.: s.n], 2014. Chapter 7.
- POORTER, L. *et al.* Diversity enhances carbon storage in tropical forests. **Global Ecology and Biogeography**, v. 24, n. 11, p. 1314-1328, 2015.
- POSSO, D. A.; BORELLA, J.; REISSIG, G.N.; BACARIN, M.A. Root flooding-induced changes in the dynamic dissipation of the photosynthetic energy of common bean plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 12, p. 212, 2018.
- PREVEDELLO, J.A. *et al.* Impacts of forestation and deforestation on local temperature across the globe. **PloS one**, v. 14, n. 3, p. e0213368, 2019.
- PRIYADI, M.; UPADHYAY, P. Emerging plant diseases under changing climate scenario. **Emerging Trends in Plant Pathology**, p. 19-31, 2021.
- 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.
- RAMOS, S. L. F. *et al.* Genetic structure in populations of *Euterpe precatória* Mart. in the Brazilian Amazon. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, p. 603448, 2021.
- RANA, S.K. *et al.* Climate-change threats to distribution, habitats, sustainability and conservation of highly traded medicinal and aromatic plants in Nepal. **Ecological Indicators**, v. 115, p. 106435, 2020.
- RAZA, A. *et al.* Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, p. 34, 2019.
- RAZGOUR, O. *et al.* Considering adaptive genetic variation in climate change vulnerability assessment reduces species range loss projections. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 21, p. 10418-10423, 2019.

- RIEMAN, B. E.; ALLENDORF, F. W. Effective population size and genetic conservation criteria for bull trout. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 21, n. 4, p. 756-764, 2001.
- ROMERO, F.M.B. *et al.* Stocks of carbon in logs and timber products from forest management in the southwestern Amazon. **Forests**, v. 11, n. 10, p. 1113, 2020.
- RHAMAN, M. S.; UL-ARIF, T.; KIBRI, M.G; HOQUE, A. Climate change and its adverse impacts on plant growth in South Asia: Current status and upcoming challenges. **Phyton**, v. 91, n. 4, p. 695, 2022.
- SANTOS, J. A. R.; LOBÃO, M. S.; ARAUJO, R. M. G. de. Uso da dendrocronologia para avaliar a produção anual de frutos da espécie theobroma cacao l. No Sudoeste Da Amazônia. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 50001-50011, 2020.
- SENA, A.; CORVALAN, C.; EBI, K. Climate change, extreme weather and climate events, and health impacts. Global Environmental Change. **Handbook of Global Environmental Pollution**, v. 1, p. 605-613, 2014.
- SILVA, A.S.O.da; PARAENSE, V. de Campos. Production chain for brazil-nuts (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) at Ipaú-Anilzinho extractive reserve, municipality of Baião, Pará, Amazonian Brazil. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 13, p. 68-80, 2019.
- SILVA, E.R. *et al.* Produtos florestais não madeireiros e valoração ambiental da Floresta Nacional de Pacotuba, ES. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 3, p. 363-373, 2019.
- SILVA, P.L.A. Biodiversidade e mudanças climáticas no Brasil: levantamento e sistematização de referências. **WWF Brasil (Relatório)**. Brasília,DF, 2018. Disponível em: https://d3nehc6yl9qzo4.cloudfront.net/downloads/WWF_Levantamento_21maio18_nr09.pdf. Acessado em 16 de abril de 2023.
- SILVA, D.W. *et al.* Extrativismo e desenvolvimento no contexto da Amazônia brasileira. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 38, 2016. DOI: 10.5380/dma.v38i0.44455.
- SOUZA-FILHO, P. W. M. *et al.* Four decades of land-cover, land-use and hydroclimatology changes in the Itacaiúnas River watershed, southeastern Amazon. **Journal of environmental management**, v. 167, p. 175-184, 2016.
- SOLOMON, A.M.; KIRILENKO, A.P. Climate change and terrestrial biomass: what if trees do not migrate? **Global Ecology and Biogeography Letters**, p. 139-148, 1997.
- SHARMA, Munish *et al.* Changing Scenario of Medicinal Plants Diversity in Relation to Climate Changes: A Review. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 4389-4400, 2020.
- SHARROCK, S. GSPC: a guide to the GSPC. All the targets, objectives and facts. **Botanic Garden Conservation International, Richmond**, 2012. Disponível em: https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2019/04/Guide_to_GSPC_english.pdf. Acessado em 5 de abril de 2023.
- SKORUPA, L.A. Espécies de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) da Amazônia brasileira. **Acta Amazonica**, v.30, n.1, p. 59–59, 2000.
- STOY, P.C. Deforestation intensifies hot days. **Nature Climate Change**, v. 8, n. 5, p. 366-368, 2018.

- TAYLOR, H. R. *et al.* The conservation management implications of isolation by distance and high genetic diversity in Great Spotted Kiwi (*Apteryx haastii*). **Emu-Austral Ornithology**, v. 121, n. 1-2, p. 10-22, 2021.
- TIAN, P.; LIU, Y., SUI, M.; OU, J. Prediction of Potential Habitats of *Zanthoxylum armatum* DC. and Their Changes under Climate Change. **Sustainability**, v. 14, n. 19, p. 12422, 2022.
- TIKENDRA, L. *et al.* Understanding the genetic diversity and population structure of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl.- An endangered medicinal orchid and implication for its conservation. **South African Journal of Botany**, v.138, p.364–376, 2021.
- THOMAS, W.J. Optimising the conservation of genetic diversity of the last remaining population of a critically endangered shrub. **AoB PLANTS**, v.13, n.1, p.1–11, 2021.
- VERMA, K.K.; SINGH, M. Flooding stress in a changing environment. **Asian J. Bot**, v. 1, p. 1-11, 2018.
- VIGNAL, A. *et al.* A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics selection evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002.
- WANG, Y. *et al.* Analysis of the genetic diversity of the coastal and island endangered plant species *Elaeagnus macrophylla* via conserved DNA-derived polymorphism marker. **PeerJ**, v. 8, p. e8498, 2020.
- WU, X. *et al.* Impact of climate change on human infectious diseases: Empirical evidence and human adaptation. **Environment international**, v. 86, p. 14-23, 2016.
- WU, Yuan-Mi *et al.* Impact of past and future climate change on the potential distribution of an endangered montane shrub *Lonicera oblata* and its conservation implications. **Forests**, v. 12, n. 2, p. 125, 2021.
- WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, v. 16, n. 2, p. 97, 1931.
- ZAVALETA, C. *et al.* Multiple non-climatic drivers of food insecurity reinforce climate change maladaptation trajectories among Peruvian Indigenous Shawi in the Amazon. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0205714, 2018.
- ZAYA, D.N. *et al.* Assessing genetic diversity for the USA endemic carnivorous plant *Pinguicula ionantha* RK Godfrey (Lentibulariaceae). **Conservation Genetics**, v. 18, n. 1, p. 171-180, 2017.
- ZWIENER, V.P. *et al.* Planning for conservation and restoration under climate and land use change in the Brazilian Atlantic Forest. **Diversity and Distributions**, v. 23, n. 8, p. 955-966, 2017.
- YANG, T. *et al.* Transcriptome and metabolome analyses reveal the pivotal role of hydrogen sulfide in promoting submergence tolerance in *Arabidopsis*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 183, p. 104365, 2021.
- YAOITCHA, A. S. *et al.* Climate change impact projection on spatial distribution of *Zanthoxylum zanthoxyloides* (lam.) z & t.–a threatened medicinal plant in Benin (West Africa). **Agronomie Africaine**, v. 34, n. 2, p. 293-305, 2022.
- YUN, S.A. *et al.* Genetic diversity and population structure of the endangered orchid *Pelatantheria scolopendrifolia* (Orchidaceae) in Korea. **PloS one**, v. 15, n. 8, p. e0237546, 2020.

