



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS E
AMBIENTAIS – PPGCIFA

Caracterização de plantios multiâneos de *Aniba roseodora* Ducke em área
Sateré Mawé com fins de produtividade

Paulo Vinícius da Silva Santos

Manaus – Amazonas

2020

Paulo Vinícius da Silva Santos

Caracterização de plantios multiâneos de *Aniba roseodora* Ducke em área
Sateré Mawé com fins de produtividade

Orientador: PhD. Manuel de Jesus Vieira Lima Junior

Coorientadores: Dr. Pedro Medrado Krainovic

Dr. Pedro de Queiroz Costa Neto

Projeto de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais e Ambientais.

Manaus – Amazonas

2020

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVO GERAL.....	10
2.1. Objetivos específicos.....	10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
3.1. <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke.....	11
3.1.1. Descrição botânica.....	11
3.1.2. Taxonomia.....	12
3.1.3. Distribuição geográfica e habitat.....	13
3.1.4. Aspectos ecológicos.....	14
3.1.5. Manejo e usos da espécie.....	14
3.2. Diversidade Genética do Pau-rosa.....	16
3.3. O papel do Pau-rosa na bioeconomia da Amazônia.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1. Descrição da Área.....	21
4.2. Coleta de dados.....	24
4.2.1. Inventário Florestal dos plantios.....	24
4.2.2. Amostras de folha e galhos finos para análise química.....	24
4.2.3. Coleta de folhas para análise genética.....	25
4.3. Análise Laboratorial.....	26
4.3.1. Caracterização dendrométrica dos plantios inequiâneos.....	26
4.3.2. Quantificação de biomassa.....	26
4.3.3. Extração de óleo essencial.....	26
4.3.4. Cromatografia gasosa GC-FID e GC-MS.....	27
4.3.5. Extração de DNA.....	28
4.3.6. Quantificação de DNA genômico.....	29
4.3.7. Marcador molecular AFLP.....	30
4.3.8. Gel de poliacrilamida 6% em eletroforese vertical.....	32
4.3.9. Revelação com coloração em nitrato de prata.....	32
4.4. Métodos estatísticos e análises.....	33
4.4.1. Caracterização dendrométrica dos plantios inequiâneos.....	33
4.4.2. Quantificação da Biomassa e produtividade.....	34
4.4.3. Análise Química.....	34

4.4.4. Análise Genética.....	35
5. RESULTADOS ESPERADOS	38
6. CRONOGRAMA	40
7. ORÇAMENTO	41
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Características botânicas de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke. A) árvore, B) folha, C) inflorescência, D) flor, E) fruto, F) semente.	12
Figura 2: Área de ocorrência de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke no Brasil.....	13
Figura 3: Área indígena Sateré-Mawé.....	21
Figura 4: Principais Rios que dão acesso à área indígena Sateré-Mawé.	22
Figura 5: Locais de Coleta.....	24

1. INTRODUÇÃO

A floresta amazônica, maior floresta tropical do mundo, abrange 7,41 milhões de km² da América do Sul (OTCA, 1998), sendo que deste valor, aproximadamente 5 milhões de km² são considerados território da Amazônia Legal Brasileira (SKOOLER e TUCKER, 1993). Sua dimensão continental traz consigo uma rica biodiversidade que tem significativa relevância no mundo por seus inúmeros recursos e atrativos para as mais diversas áreas do conhecimento e interesses que possa a vir atrair, sendo credenciada como um dos maiores bancos genéticos do planeta (FEARNSIDE, 2005; PINTO, 2008).

Estudar esse ecossistema complexo e heterogêneo é instigante e difícil, devido as suas inúmeras características próprias. Pois ao mesmo tempo em que a floresta amazônica é caracterizada por sua grande biodiversidade e exuberância (BRAGA 1979; TER STEEGE, 2013), é vista também por sua fragilidade a quaisquer interferências antrópicas (KITAMURA, 2001; BRASIL, 2004). Na Amazônia existem diversos povos tradicionais vivendo na floresta e da floresta, que só tiveram seus direitos garantidos a partir do Decreto 6.040/2007 que institui a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável dos Povos e Comunidades Tradicionais (PNPCT) (BRASIL, 2007). Esses povos são essenciais para manter a conservação da biodiversidade e precisam estar integrados aos estudos e planos de desenvolvimentos na região amazônica a partir de produtor naturais oriundos da floresta (SILVA, 2019).

A *Aniba rosaeodora* Ducke (da família Lauraceae), conhecida popularmente por pau-rosa, pau-rosa-itaúba (Brasil), cara-cara, rosewood (Guiana), bois-de-rose (Guiana Francesa) e enclit-rosenhout (Suriname) (SAMPAIO et al., 2003), é uma das espécies de destaque da Amazônia, tendo relação pareada com a economia da região no início do século XIX (LEITE et al, 1999). O alto teor de linalol encontrado no óleo essencial da espécie despertou o interesse de indústrias de perfumaria, química, farmacológica e médica (GOTTLIEB, 1957; BRULEAUX, 1990; SANTOS, 2017; KRAINOVIC, 2018), fazendo com que quase levasse a extinção da mesma, devido ao modelo extrativista de corte seletivo, característico na região, que não permitia a renovação de estoque na floresta (HOMMA, 2014).

Com a redução de indivíduos maduros, ocorre a redução na produção de sementes, conseqüentemente, aceleração da deriva genética e redução do fluxo gênico inter-populacional (YOUNG et al., 1996; SANTOS et al., 2008; BENZAQUEM, 2009) que somado a baixa densidade de espécies florestais, por vezes ocorrendo com um ou menos de um indivíduo em período reprodutivo por hectare na Amazônia Central (AMARAL et al., 2000 e OLIVEIRA, 2000), acelera-se o processo de extinção de uma espécie.

Com base nesse cenário o governo federal, junto com órgãos internacionais viram a necessidade de colocá-la na lista de espécies ameaçadas de extinção (IBAMA 1992; CITES 2010; IUCN 2014), assim como criar uma portaria (Portaria Nº 443 12/2014, MMA), que o caracterizou como uma espécie “Em Perigo (EN)”, ficando protegida de forma integral, sendo vedado, coleta, corte, transporte, armazenamento, manejo, beneficiamento e comercialização de indivíduos da espécie oriundos da floresta nativa, podendo ser utilizada apenas indivíduos oriundos de plantio florestal.

Em um estudo realizado por Chaar (2000), a partir da análise química de folhas e galhos de Pau-rosa, ele observou que é possível um modelo de manejo baseado na copa do indivíduo ao invés do corte raso, pois com as podas aumenta a produção de massa vegetal e volume, contribuindo com isto para a obtenção de maior volume de óleo extraído. Em outros estudos realizados na Amazônia Central, Ohashi et al., (1997; 2004), Sampaio et al. (2005) e Krainovic et al. (2011; 2018) observaram também que o Pau-rosa é uma espécie que tem alta capacidade de rebrota na copa e o maior rendimento de óleo advém de galhos e folhas em relação ao tronco, indicando que é possível desenvolver plantios da espécie em larga escala e que seu manejo pode ser iniciado aos quatro (4) anos de idade (KRAINOVIC, 2011), evitando a pressão nas populações naturais, conseqüentemente uma possível extinção da espécie.

No entanto, a composição química do óleo essencial pode ser afetada por diversos fatores, como procedência e idade da árvore (TAKEDA; 2008; LARA, 2012; KRAINOVIC, 2017), época de colheita (CHAAR, 2000; MAIA et al., 2007), parte da planta (CHAAR, 2000; TAKEDA, 2008; KRAINOVIC, 2011, 2017; FIDELIS et al, 2012, 2013; LARA, 2012), entre outros. Estudar a caracterização química de populações naturais da espécie, pensando no

domínio de parâmetros qualitativos do óleo essencial, assim como o estudo de variabilidade genética dessas populações, visando à seleção de progênies de qualidade superior para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, assim como o planejamento de toda a cadeia de um plantio florestal, desde a obtenção de sementes de qualidade até o manejo da espécie, poderá auxiliar nas políticas públicas para o desenvolvimento de plantios na região.

Um estudo desenvolvido por Santos et al., (2008) em três populações de Pau-rosa na Amazônia Central, ele observou alta variabilidade genética dos plantios, tendo maior variabilidade genética entre indivíduos do mesmo plantio do que entre plantios, dando destaque para a população de Manaus (Reserva Florestal Adolpho Ducke), que vem sendo protegida a 39 anos. Isso nos mostra que é possível reverter a atual situação da espécie, através de proteção de áreas onde a espécie ocorre, como indicou Leite et al., (1999), assim como pensar no Pau-rosa como uma espécie para integrar, Área de Preservação Permanente (APP), Área de Reserva Legal (ARL) ou áreas ociosas, que são fatores de interesse predominante na Amazônia. O Pau-rosa se apresenta como uma grande aliada para o desenvolvimento econômico da região, principalmente de pequenos produtores e comunidades tradicionais, pois do Pau-rosa se aproveita tudo (HOMMA, 2016).

Com esses aspectos em mente o presente estudo tem como objetivo geral criar base técnica científica para a bioeconomia de *Aniba rosaeodora* Ducke, na área Sateré-Mawé, dividindo o estudo em dois capítulos. No primeiro capítulo iremos realizar a caracterização dos plantios multiênicos a partir de inventário florestal, quantificar a biomassa por plantio, assim como realizar a caracterização química de óleo essencial oriundo de folhas e galhos finos de plantios de Pau-rosa em 3 diferentes municípios da Amazônia Central, com diferentes idades de plantio (Barreirinha, plantio de 12 (doze) e 13 (treze) anos; Maués, plantio de 7 (sete) e 10 (dez) anos e Parintins, plantio de 22 (vinte e dois) anos), com o intuito de identificar se há diferença entre componentes químicos no óleo essencial e se essa diferença pode ser explicada pela origem geográfica, idade ou influência da insolação nesses indivíduos. Dessa forma finalizaremos o capítulo com um estudo preliminar de rentabilidade econômica dos plantios analisados.

No segundo capítulo iremos estudar a variabilidade genética desses plantios, com o intuito de analisar se há diferença genética entre os indivíduos do mesmo plantio e entre plantios de diferentes municípios.

As conclusões geradas a partir desse estudo nos farão entender o perfil dos componentes químicos dos óleos essenciais analisados de diferentes origens geográficas, idades e partes da planta, assim como constatar o índice de variabilidade genética entre e dentro de plantios de Pau-rosa de diferentes origens geográficas, observando se essas áreas tem potencial para se tornar um pomar de sementes da espécie.

Os resultados desse estudo visa auxiliar na aprovação do Primeiro Plano de Manejo de Pau-rosa (*Aniba roseadora* Ducke), na terra indígena Sateré Mawé, assim como no avanço dos conhecimentos científicos da espécie, através do manejo e da conservação do Pau-rosa, podendo futuramente auxiliar nas tomadas de decisões a nível local e regional, contribuindo para o uso sustentável da espécie.

2. OBJETIVO GERAL

Criar base técnica-científica para bioeconomia de plantios de Pau-rosa em terras indígenas da Amazônia Central.

2.1. Objetivos específicos

Capítulo 1: Análises quantitativas e químicas de óleo essencial oriundas da área indígena Sateré Mawé.

1. Caracterização dendrométrica de plantios inequiâneos e produção de biomassa;
2. Determinar e comparar o rendimento de OE entre folhas e galhos finos de plantios inequiâneos;
3. Avaliar a influência da insolação na composição química do OE;
4. Determinar a composição química do OE dentro e entre plantios inequiâneos;

Capítulo 2: Análise de diversidade genética de plantios de Pau-rosa na área indígena Sateré-Mawé.

5. Analisar a variabilidade genética dentro e entre populações de Pau-rosa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. *Aniba rosaeodora* Ducke

3.1.1. Descrição botânica

Espécie pertencente à família Lauraceae (TROPICOS, 2020), sendo a árvore de grande porte, podendo atingir até 30 m de altura por 2 de diâmetro, fuste reto e cilíndrico, com uma casca pardo-amarelada ou avermelhada que se desprende facilmente em grandes placas. O alburno é amarelo-claro com estrias avermelhadas e cerne esbranquiçado a amarelado (LOUREIRO et al, 1979). A copa é estreita ou ovalada, ocupando o dossel intermediário ou superior da floresta (DUCKE, 1938; KUBITZKI e RENNER, 1982); As Folhas são simples, elípticas, papiráceas e espiraladas (CAMARGO et al, 2008), com textura coriácea e formato obovado a elíptico ou lanceolado, com uma grande variação em tamanho, geralmente 14 (6-25) cm de comprimento por 5 (2,5 - 8,0) cm de largura. A base é obtusa a arredondada, o ápice é bastante acuminado, com margens planas ou levemente revolutas. A superfície adaxial é verde e glabra e a superfície abaxial é amarelo-pálida, papilhosa e levemente pubescente (KUBITZKI e RENNER, 1982; RIBEIRO et al, 1999); Inflorescência é uma panícula subterminal de 4 a 17 cm de comprimento, densamente coberta por um indumento ferrugíneo-tomentoso. A panícula se origina nas axilas de brácteas caducas ou folhas persistentes. Cada panícula possui múltiplas flores diminutas (KUBITZKI e RENNER, 1982); As flores são hermafroditas e muito pequenas (1,5 a 1,8 mm de comprimento) amarelas a levemente ferrugíneas ou amarelo-esverdeadas. As tépalas são eretas e organizadas em dois verticilos cada um com três tépalas (2x3), sendo que as do verticilo exterior podem ser um pouco menores (KUBITZKI e RENNER, 1982); Fruto é do tipo baga, com uma cúpula. A cúpula é cônica, espessa, com superfície externa áspera marrom-esverdeada e superfície interna glabra e marrom. A baga é de forma obovóide a ovóide, de cor verde quando imatura, tornando-se roxa-escura quando madura, contendo apenas uma semente (KUBITZKI e RENNER, 1982); A semente tem o mesmo formato ovóide, tegumento delgado, liso e opaco, de cor marrom clara com estrias longitudinais marrom-escuras. O tegumento quando seco é quebradiço. A semente tem dois cotilédones grandes, convexos, duros, lisos, de cor creme. O eixo embrionário

é reto, central, próximo à base, com 3 mm de comprimento e também de cor creme (KUBITZKI e RENNER, 1982; CAMARGO et al, 2008).

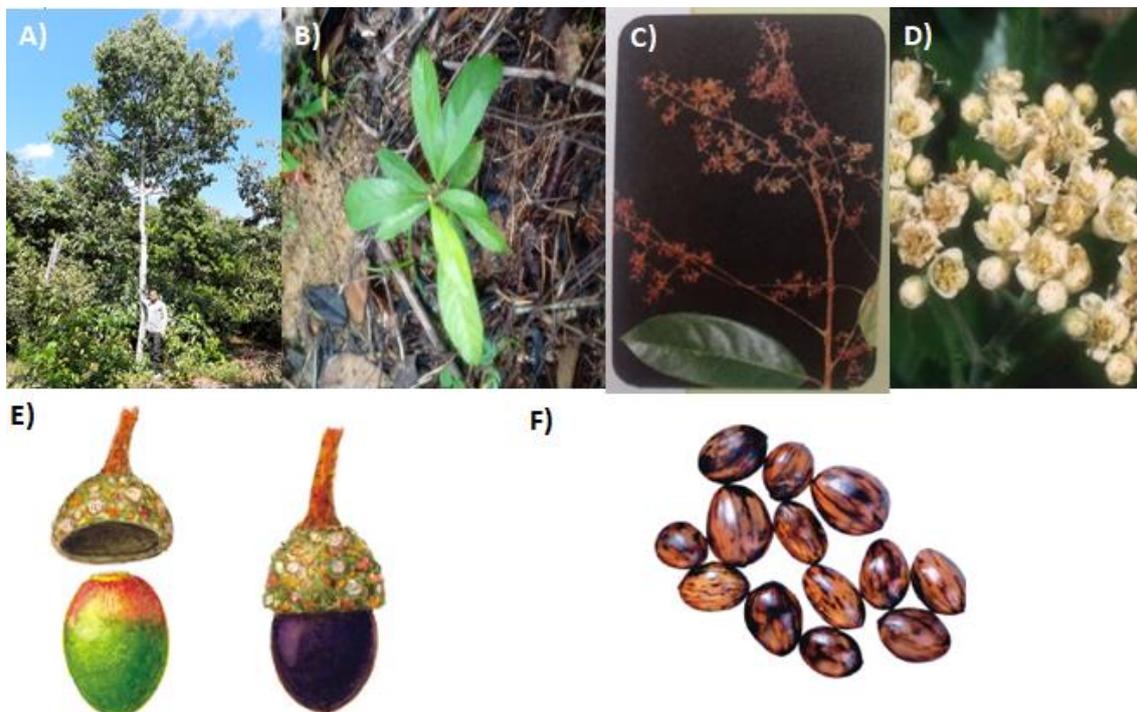


Figura 1: Características botânicas de *Aniba rosaeodora* Ducke. A) árvore, B) folha, C) inflorescência, D) flor, E) fruto, F) semente. **Fonte:** A) e B) Própria; C) e D) Ferraz, I.D.K, 2003; E) e F) Sampaio et al, 2003.

3.1.2. Taxonomia

Durante seus estudos realizado na Amazônia, Kubitzki e Renner (1982) afirmaram que *Aniba rosaeodora* integra o complexo *A. panurensis*, com outras 11 espécies de folhas papilosas. A identificação taxonômica do gênero *Aniba* é de difícil aplicação devido às similaridades dos caracteres vegetativos, indicando uma delimitação taxonômica que gera dúvida entre as espécies que fazem parte do complexo *panurensis*. No estudo desenvolvido por Barbosa et al. (2016) é reforçado esse ponto, pois através da análise morfológica e de espectros de 306 amostras botânicas do gênero, ele verificou que apenas 3 correspondiam às descrições de Kubitzki e Renner (1982), indicando que os limites entre as espécies do complexo *Aniba panurensis* não são claros e o conhecimento sobre a variação morfológica neste grupo é ainda muito superficial.

3.1.3. Distribuição geográfica e habitat

A espécie é endêmica da região Amazônica, ocorrendo em países como Suriname, Guiana Francesa, Venezuela, Peru, Colômbia, Equador e Brasil (CAMARGO e FERRAZ, 2016). No Brasil, a área de ocorrência se dá entre a região sul e norte do rio Amazonas em duas faixas, cuja meridional se estende de Juriti Velho (limite ocidental do estado do Pará), até o baixo rio Purus (estado do Amazonas), cujo limite setentrional vai do rio Trombetas até as terras altas do norte (DUCKE, 1938; MITJA e LESCURE, 1996). A espécie pode ser encontrada em floresta de terra firme úmida como também em área de campinarana, presente nas regiões norte e central da Amazônia, com habitat preferencial em platôs e nascentes de igarapés (KUBITZKI e RENNER, 1982).



Figura 2: Área de ocorrência de *Aniba rosaeodora* Ducke no Brasil. **Fonte:** (WREGGE, 2020).

3.1.4. Aspectos ecológicos

É uma árvore amazônica perene, ocorrendo maior mudança foliar na estação seca (ARAÚJO, 1970; MAGALHÃES e ALENCAR, 1979), que tem padrões de florescimento diferentes para populações naturais e plantadas pelo homem. Alencar e Fernandes (1978) citam que os meses de floração na Reserva Florestal Adolpho Ducke vão de outubro e novembro e a frutificação, entre novembro e março. No ano seguinte Magalhães e Alencar constataram que na Amazônia Central a floração ocorria entre junho e março e a frutificação apresentava um pico entre fevereiro e junho. Lorenzi (1998) afirmou que no estado do Amazonas a floração concentra-se de maio a junho e que os frutos amadurecem de setembro a outubro. Sampaio (2000) observou que na estação experimental de Curuá-Una (PA) a floração ocorre entre outubro e novembro e a frutificação entre dezembro e junho. Spironello et al (2001), observaram dois picos de floração para as árvores de um plantio da Reserva Florestal Adolpho Ducke: o primeiro no final de abril e início de maio e o segundo no final de julho, tendo tempo de maturação do fruto de 13 a 14 meses e frutificação de 3 a 4 meses. Como pode ser visto a fenologia da espécie varia de local para local, tendo uma floração anual ou supra-anual, sendo que a espécie floresce anualmente apenas em condições de plantio, não ocorrendo o mesmo na natureza (BARBOSA, 2008).

A polinização se dá principalmente por insetos, pois o Pau-rosa têm características florais que atraem abelhas, onde foi observada a visita de duas espécies (*Trigona* spp.), pertencentes à família Meliponinae (KUBITZKI e KURZ, 1984) e os coleópteros (GRANT, 1963; SILVA, 2010). Spironello et al (2003) observou a visitação de pequenos insetos do Gênero *Thrips* em árvores de plantio na Reserva Ducke, na época da floração. A dispersão se dá por pássaros, principalmente psitacídeos e tucanos (SPIRONELLO et al, 2003), porém segundo a Alencar e Magalhães (1979), essas aves também podem ser considerados predadoras. Seu estágio sucessional é considerado como uma secundária tardia (MAY e BARATA, 2004).

3.1.5. Manejo e usos da espécie

Para seu desenvolvimento inicial (dois anos), o Pau-rosa necessita de 30% a 50% de sombreamento (GONÇALVES et al, 2005), apesar de ser

considerado uma espécie heliófila quando juvenil para maior incremento de biomassa área (ALENCAR e FERNADES, 1978). Em um plantio em Maués, Krainovic (2017) observou que a poda possibilitou recomposição por rebrota de 40,11% da massa seca inicial enquanto o corte apenas 1.45%, após 12 meses. Este fato interessa ao produtor que deseja extrair óleo da espécie, visto que as podas estimulam vigorosas brotações (OHASHI et al., 2004, SAMPAIO et al., 2007; KRAINOVIC et al., 2017). Essa informação tem significativa importância para o extrator de óleo e para quem deseja realizar um plantio da espécie, visto que a produtividade de óleo é diretamente proporcional à biomassa área (SAMPAIO et al, 2000).

O Pau-rosa brasileiro tem variação da presença de linalol no óleo essencial de 78% a 93% (OHASHI, 1997; CHAAR, 2000; TAKEDA, 2008; KRAINOVIC, 2011; FIDELIS et al., 2012; 2013), Takeda (2008) observou que a partir de rebrotas de plantios de 3 e 5 anos, as folhas obtiveram maior rendimento de óleo em relação aos galhos, no entanto a produção de linalol foi maior nos galhos, visto que em plantios de 3 anos, a proporção foi de 64% contra 50% das folhas, já no plantio de 5 anos a proporção foi de 65% contra 38 % nas folhas. Segundo Leite et al., (2001), o conteúdo de linalol pode variar de acordo com a estação climática, ou seja, por ser um componente muito volátil, pode sofrer alterações com o aumento da temperatura (OHASHI et al, 1997; CHAAR, 2000), assim como os componentes minoritários do óleo essencial como foi observado por Krainovic (2017), onde a partir da análise química de óleo essencial de plantios de Pau-rosa de Novo Aripuanã e de Maués foi presença e ausência de componentes químicos quando se observava o material oriundo dos municípios citados acima. É de significativa importância lembrar que o rendimento em si não é fator primordial na extração do óleo essencial da espécie, visto que a indústria procura seu constituinte majoritário que é o linalol, assim como no bouquet de fragrâncias obtido a partir dos constituintes minoritários (KRAINOVIC, 2017).

Esses estudos realizados nos sinalizam que é possível realizar o manejo sustentável da espécie, favorecendo a renda da população local através do plantio da espécie, que aos quatro anos pode-se iniciar o manejo da copa (KRAINOVIC, 2011), gerando matéria prima para a indústria, que deseja destinar aos diversos usos que se dão através do óleo essencial da espécie,

como medicinais (LORENZI e MATOS, 2008), religiosos (LUPE, 2007) e de perfumaria (BASTOS, 1943). Logo observa-se a necessidade de criação de linhas de crédito para a atividade a longo prazo, estimular instituições de pesquisas para o contínuo estudo da espécie, assim como assistência técnica para os interessados em desenvolver plantios (HOMMA, 2003).

3.2. Diversidade Genética do Pau-rosa

A preocupação com a erosão genética de espécies florestais é sempre um assunto que desperta interesse da sociedade, visto que ecossistemas naturais são fontes de recursos genéticos de valor econômico que tem destaque na balança comercial de vários países no mundo, como historicamente é o caso do Brasil (BRASIL, 2019). As florestas tropicais são as que mais sofrem com a degradação de seus ambientes, devido o ritmo acelerado do desmatamento e fragilidade desses ecossistemas (FEARNSIDE, 1986), realidade vivida na floresta amazônica, que abriga a maior biodiversidade e representa o maior banco genético do mundo (FEARNSIDE, 2003^a; HIGUCHI, 2006). Com base nesse cenário, a variabilidade genética dessas espécies é afetada, causando empecilhos para que a condição de evolução dessas populações seja atendida e as mesmas se adaptem e se perpetuem ao longo do tempo no ambiente (CONTE et al., 2008).

Em um estudo realizado por Contim et al., (2005) foi realizada a quantificação de DNA nuclear e caracterização de seu cariótipo, onde foram encontrados valores do tamanho do genoma, correspondendo a 2,36 picogramas de DNA e de sua estrutura cariotípica com 24 cromossomos. Em outro estudo, realizado por Santos et al, (2008) para avaliar a variabilidade genética de populações naturais de Pau-rosa em 4 locais diferentes (Maués, Parintins, Manaus e Silves), distribuídas na bacia Amazônica Central, ele observou que apesar do Pau-rosa está ameaçado de extinção, as populações estudadas apresentaram alta diversidade genética, dando destaque para a população de Manaus (Reserva Florestal Adolpho Ducke), que vem sendo protegida a 42 anos. No estudo realizado por Angrizani et al., (2013) na Reserva Florestal Adolpho Ducke e no município de Maués, com um total de 68 indivíduos foi observado alta variabilidade genética em suas análises através

de microssatélites, contribuindo com a assertiva da alta variabilidade genética das populações de Pau-rosa existentes.

Esses estudos nos mostram que apesar da extração irracional do Pau-rosa no estado do Amazonas, que ocorreu desde 1926 até final dos anos 90 (HOMMA, 2003), as populações existentes no estado ainda apresentam alta variabilidade genética, representando uma notícia positiva para a contínua existência da espécie. Logo, observa-se a necessidade de o contínuo investimento em pesquisa sobre a espécie, estimulando instituições de pesquisa para desenvolver juntamente com o governo uma política de incentivo econômico para quem tem interesse de desenvolver plantios de Pau-rosa, assim como assistência técnica para os interessados (HOMMA, 2003).

3.3. O papel do Pau-rosa na bioeconomia da Amazônia

A “descoberta” pelo homem branco do Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), remonta a 3 (três) séculos atrás, mais precisamente em 1762 na Guiana Francesa, por Aublet (BASTOS, 1943), onde os indígenas contaram-lhe sobre uma espécie que exalava um cheiro muito apreciado pela população local. Relatos de Bastos (1943) nos informam que a primeira extração de óleo da espécie se deu em 1875 por Samarin e em 1991 Morin separou o álcool que dá o perfume peculiar o qual denominou de linalol. A extração de Pau-rosa na Guiana Francesa começou antes da I Guerra Mundial, onde as toras eram embarcadas em navios com destino a países europeus (HOMMA, 2003). Em 1910, as exportações de Pau-rosa segundo Leite et al., (1999), atingiram 1.262.000 kg de madeira e 22.100 kg de essência. Nesta data já se sentia a dificuldade de se encontrar a espécie na mata local, vista que era explorada sem nenhum tipo de controle (LEITE et al., 1999).

A fama do Pau-rosa aumentou significativamente com o lançamento do Chanel n° 5 em 5 de maio de 1921, mais conhecido por Coco Chanel, usado pela atriz Marilyn Monroe (HOMMA, 2003). Em 1926, a partir de relatos de Ducke (1930) em sua viagem às regiões do baixo e médio Amazonas, ele observou a presença do Pau-rosa no local, se estendendo de Juriti Velho-PA até Maués-AM. No mesmo ano foi instalada a primeira usina para beneficiamento de Pau-rosa em Juruti Velho-PA, fato esse que a caracterizou como a primeira agroindústria flora-química implantada na Amazônia (HOMMA,

2003). Nesse mesmo ano foi exportado quase 16 t de óleo essencial da espécie, onde 12.752 kg eram oriundos das populações do baixo e médio Amazonas, no entanto está usina funcionou apenas no primeiro ano, fazendo que surgissem outras usinas nos locais de ocorrência da espécie. Fato esse que fez o valor do óleo essencial despencar, fazendo com que o Governo do Amazonas, em 1932, obrigasse as oito usinas que funcionavam no estado a se reunirem em um consórcio para controlar a produção anual e conseqüentemente o preço de exportação do óleo essencial, por meio do Decreto 1.455. Seguindo os passos do Governo do Amazonas, o Governo do Pará em 1935 tomou a mesma atitude, estabilizando o preço do produto. (BASTOS, 1943).

A partir das medidas de controle da produção foi realizado o replantio de 28 mil árvores no período de 1933 a 1943 (HOMMA, 2014). Com a entrada do Japão no mercado comprador o preço óleo essencial aumentou significativamente, fazendo o produto ocupar o terceiro lugar nas exportações de produtos da Amazônia (PEDROSO 1986). Com a saída do Japão devido a segunda guerra mundial a extração de linalol a partir de árvores de “ho-il” (*Cinnamomum camphora* Sieb var. *linaloolifera* Fujita) foi interrompida, ocorrendo aumento da procura pelo óleo essencial do Pau-rosa que levou o preço do quilograma chegar a CR\$ 200,00 (LEITE et al., 1999; HOMMA, 2003). O auge de volume exportado se deu em 1951, com 444 t, com um preço de US\$ 1.388,00/tambor de 180 kg (LEITE et al., 1999).

No final da década de 1950 com a síntese química em laboratórios americanos, permitiu a venda dos componentes básicos do linalol e acetado de linalila, diminuindo a procura pelo óleo de origem natural (GOTTLIEB, 1957). Após esse período, a exportação do produto só volta a atingir valores superiores a 1951, quando ocorreu o aumento do preço do petróleo em 1973 devido a Guerra do Yom Kippur, tendo os países árabes organizados na OPEP aumentando o preço do petróleo em mais de 400% (MAFFEO, 2003), fato esse que fez com que as unidades produtoras paralisassem a produção, fazendo a procura pelo óleo essencial de Pau-rosa atingir em 1974 o preço de US\$5.148,00/tambor (HOMMA, 2003). Com o retorno da produção do linalol sintético a preços de US\$ 595,00 a US\$ 714,00/tambor (BENCHIMOL, 1977), o preço do linalol natural voltou a cair, devido também a escassez das reservas

naturais, chegando ao triênio de 2012/2014 em menos de 2 t ao preço de US\$567,00/kg (HOMMA, 2016).

Para atender a demanda pela espécie, muitas comunidades tradicionais foram utilizadas para a coleta dessas árvores na floresta amazônica, como exemplo, temos relatos Sateré Mawé segundo CANALEZ (2007):

“ (...) o Pau-rosa tem uma história muito importante para o nosso povo e o porquê ela começa onde surgiu o povo Sateré”. **(Tuxaua Josebias)**.

“(...) o Pau-rosa é uma árvore que existe aqui na tribo Sateré. Quando eu não tinha conhecimento da importância do Pau-rosa nós puxáva no mato para os brancos, ai os brancos entravam aqui, nessa época em 1978 nós puxáva o Pau-rosa. Para nós como era primário conhecer o branco, era uma animação” **(Tuxaua Amado)**.

As populações indígenas têm relação milenar com essas áreas, desenvolvendo ao longo do tempo, um precioso conhecimento através da observação do desenvolvimento da natureza, fato esse que lhes deram experiências para o manejo de espécies que eles identificaram como necessárias para seu desenvolvimento como sociedade (DESCOLA, 1990; SALISBURY, 2007).

O Serviço Florestal Brasileiro (2016) informou que cerca de 136 milhões de hectares de florestas públicas brasileiras, são intituladas de florestas comunitárias ou sociais, visto que estão destinadas a povos e comunidades tradicionais como: indígenas, extrativistas, ribeirinhos e assentados, gerando renda para mais de 2 milhões de habitantes, apresentando maior grau de conservação frente a outras áreas da mesma região. Através desses números, podemos entender que o futuro da conservação desses ambientes depende significativamente da inclusão dessas populações tradicionais no âmbito do desenvolvimento de uso e produção florestal (madeira ou não madeira) (ALMEIDA, 2011; HOMMA, 2014).

Nos últimos 10 anos, a produção florestal não madeira vem aumentando a cada ano e os ingressos totalizam mais de 10 bilhões de reais,

distribuídos nas diversas regiões brasileiras (BRASIL, 2019), destacando-se no cenário mundial, principalmente, quanto à importância para as comunidades locais que fazem o manejo dos produtos não madeireiros da floresta (GUERRA, 2008). No Brasil, país que apresenta a maior diversidade do mundo e a segunda maior área de florestas, a produção florestal não madeireira representa cerca de 35% do montante do extrativismo florestal, onde desse valor 45% é correspondente a região norte do Brasil (BRASIL, 2019).

Através desses números, podemos entender que o futuro da conservação desses ambientes, assim como a preservação de espécies como o Pau-rosa, depende significativamente da inclusão dessas populações tradicionais no âmbito do desenvolvimento de uso e produção florestal (madeireira ou não madeireira), podendo ter a volta do Pau-rosa como destaque entre as espécies mais exportadas como foi no passado, no entanto, o futuro que se espera é uma organização dessa atenuante, necessitando de um esforço público-privado que envolva desde a seleção de matrizes para a coleta de sementes até a produção em larga escala através do manejo da copa da espécie da espécie (SAMPAIO et al., 2005; TAKEDA, 2008; ALMEIDA, 2011; KRAINOVIC et al., 2011; LARA et al., 2012; HOMMA, 2014; KRAINOVIC et al., 2017).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Descrição da Área

Este estudo será desenvolvido na área indígena Sateré Mawé, que abrange cinco municípios da Amazônia Brasileira, dois no estado do Pará (Aveiro e Itaituba) e três no estado do Amazonas (Parintins, Barreirinha e Maués), totalizando uma área de 788.528 hectares.

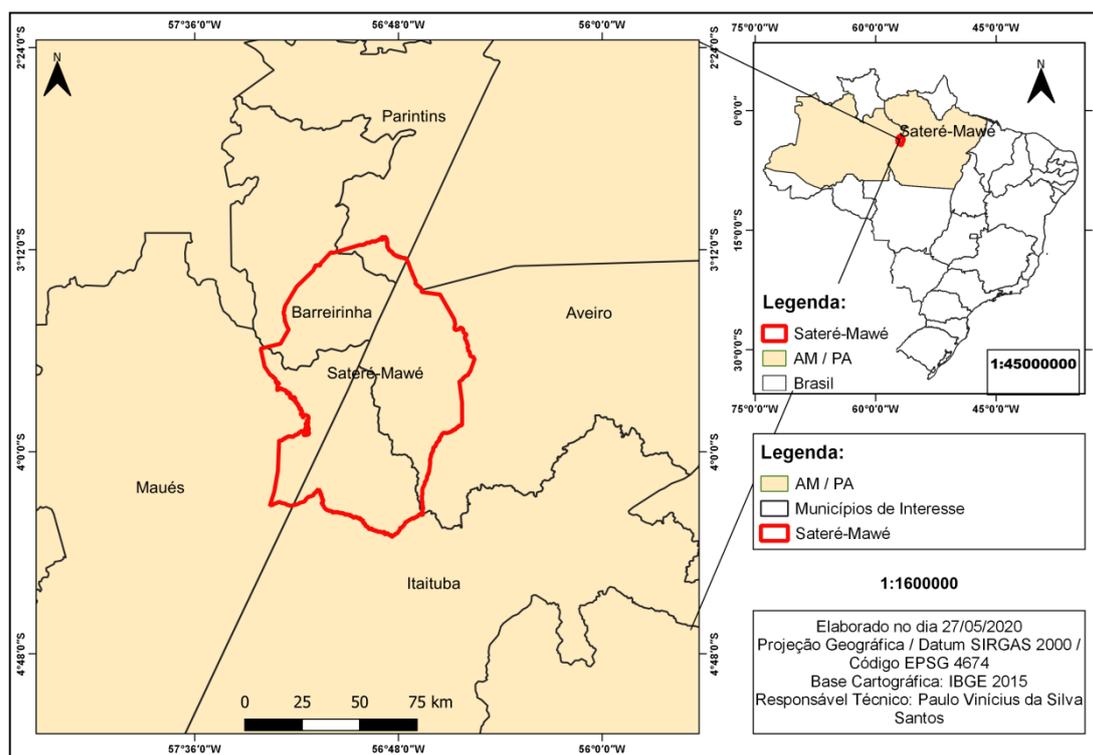


Figura 3: Área indígena Sateré-Mawé

Fonte: Própria

A terra indígena Andirá-Marau é unidade de referência dos povos indígenas Sateré Mawé, conforme atesta a Portaria nº. 1.216, de 06/05/1982 do processo de sua regularização administrativa. Foi homologada pelo Decreto Nº. 93.069 publicado no Diário Oficial da União em 07 de agosto de 1986 e está localizada na região do Baixo Rio Amazonas. Politicamente, divide-se em três áreas caracterizadas pelos rios que banham seu território: rio Andirá, no município de Barreirinha (servindo de acesso para os indígenas atingirem o estado do Pará), rio Marau, no município de Maués e rio Uaicurapá no município de Parintins (SILVA et al., 2010).

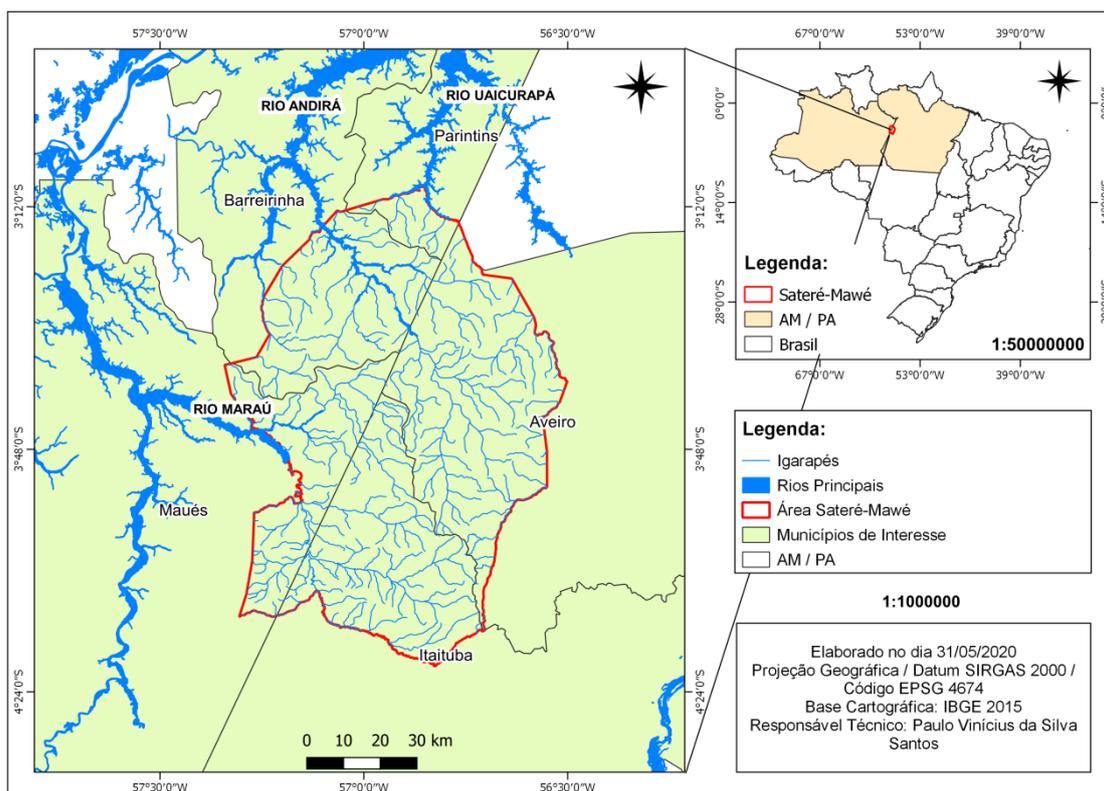


Figura 4: Principais Rios que dão acesso à área indígena Sateré-Mawé.

Fonte: própria.

Os municípios selecionados para a coleta de dados para este estudo estão localizados no estado do Amazonas, Brasil, na Amazônia Central (FITTKAU et al., 1975), sendo eles, Barreirinha, Maués e Parintins com plantios de diferentes idades, em diferentes comunidades.

O clima de **Barreirinha** é classificado como tipo Am, quente e úmido de acordo com Köppen-Geiger, com uma precipitação média anual de 2.334 mm e uma temperatura média anual de 27.6°C. Os solos da região são predominantemente classificados como latossolo amarelo distrófico (SILVA et al., 2010). O clima em **Maués** é quente e úmido, com chuvas regulares e abundantes, com uma pluviosidade média anual de 2.101 mm e uma temperatura média anual de 27.2°C, segundo Köppen-Geiger, o clima é do tipo Af. O solo é classificado como latossolo vermelho amarelo distrófico (KRAINOVIC, 2017). O clima de **Parintins** é classificado como tropical chuvoso (Amw), segundo a classificação de Köppen (COUTO, 2005), caracterizado por uma precipitação pluviométrica superior a 2000 mm/ano, marcado por uma estação seca de curta duração, com temperatura média anual em torno de

26°C. Os solos da região são classificados como Latossolo amarelo álico (DEZORDI e TEIXEIRA, 2009).

4.1.1. Barreirinha

Em Barreirinha, os estudos serão realizados na comunidade indígena Vinte Quilos (-03° 14' 00,65039"; -057° 06' 20,18159"), no plantio de (13) treze anos (B13), com (61) sessenta e um indivíduos de Pau-rosa, de propriedade do CPSM, onde o Sr. Portuga toma conta. A outra coleta será realizada na comunidade indígena Nova União (-03° 17' 06,16919"; -057° 01' 18,93719"), no plantio de (12) doze anos (B12) da Sra. Jucilene, com (91) noventa e um indivíduos de Pau-rosa.

4.1.2. Maués

No município de Maués os estudos serão realizados na comunidade indígena Ilha Michilis (-03° 44' 52,08359"; -057° 16' 45,24239"), em plantios de sete (M7) e dez (M10) anos de idade. O plantio de (7) sete anos (M7) é de propriedade do Sr. Carlos Alves, com um total de (133) cento e trinta e três árvores de Pau-rosa. Já o plantio de (10) dez anos (M10) é de propriedade do Sr. Edanderson, com um total de (58) cinquenta e oito árvores de Pau-rosa.

4.1.3. Parintins

Em Parintins a coleta foi realizada na comunidade Vila da Paz (-03° 10' 14,5"; -056° 50' 46,0"), com o plantio de (22) vinte e dois anos, com (46) quarenta e seis indivíduos de Pau-rosa de propriedade do Sr. Tuchaua Rosê.

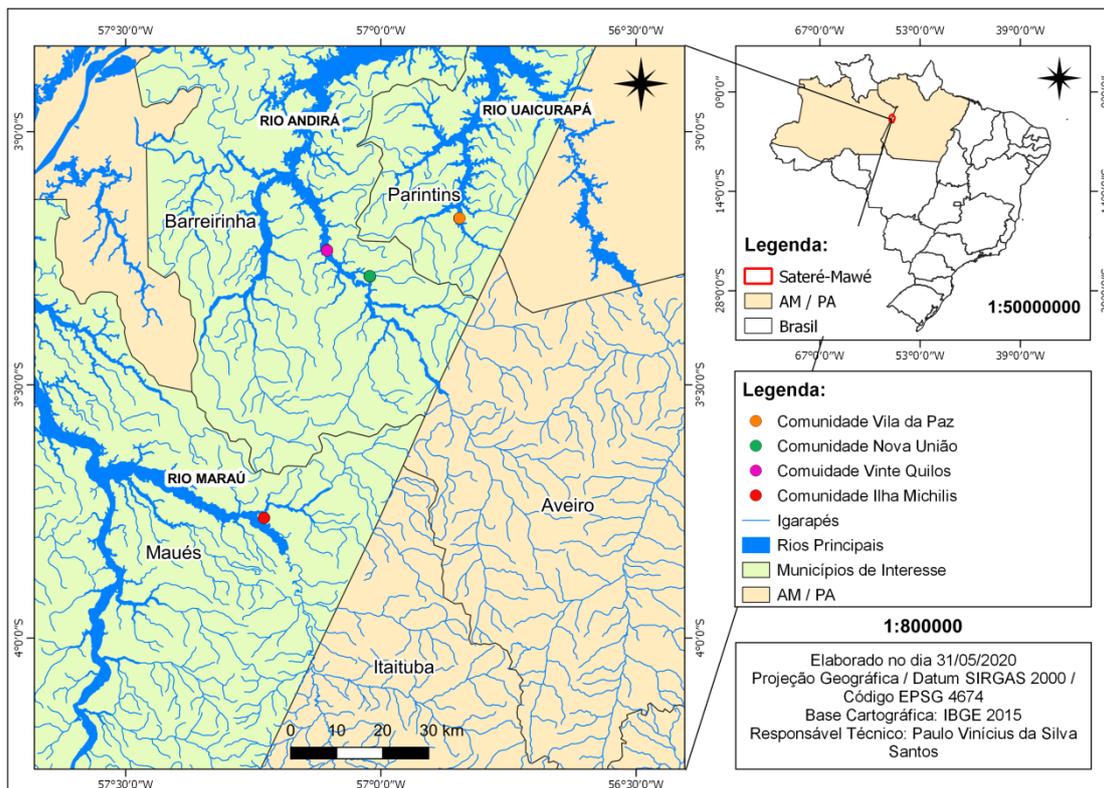


Figura 5: Locais de Coleta.

Fonte: Própria.

4.2. Coleta de dados

4.2.1. Inventário Florestal dos plantios

Iremos realizar um inventário a 100% (censo) dos plantios inequiâneos de Pau-rosa, onde coletaremos informações sobre a localização dos indivíduos, por meio de GPS Garmim, modelo 78S. Posteriormente, iremos identificar as árvores com placas de alumínio e número correspondente que será realizado por meio de Marcador Punção Alfanumérico 10 peças. Coletaremos informação de altura (m), DAP (cm) e comprimento de copa (x e y) (m), por meio de trena de 10 e 30 m, fita métrica de 1,5 m, vara de 3 metros para auxiliar nas medições de altura, ficha de campo, lápis e borracha.

4.2.2. Amostras de folha e galhos finos para análise química

A amostra foi definida em triplicata (CHAAR et al., 2000), onde em cada plantio será coletado material vegetativo de três indivíduos escolhidos aleatoriamente no centro do plantio para evitar efeitos de borda. De todos os indivíduos serão coletada 600 gramas de folhas e 600 gramas de galhos, do terço superior e do terço inferior da copa, onde por meio de um luxímetro,

registraremos informações como: intensidade de lux (lx) no terço superior e inferior da copa, temperatura no momento da coleta (°C) e umidade relativa do ar (%) segundo metodologia utilizada por Rosatto et al. (2010). Para a coleta do material vegetativo, utilizaremos tesoura de poda, podão de 4 metros e se necessário, utilizaremos escada. Por cada indivíduo teremos 4 (quatro) amostras, totalizando 12 (doze) amostras por plantio. Ao final da coleta, teremos 60 (sessenta) amostras de material vegetativo, oriundo das três áreas de estudo.

As amostras coletadas serão armazenadas em sacos de pano, evitando a exposição do material à luz e a consequente perda de constituintes voláteis. Após a secagem em estufa a 40°C por 48 horas no Laboratório de Secagem de Madeira, da Universidade Federal do Amazonas, as amostras de galhos e folhas serão levadas para o Laboratório de Carvão Vegetal do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e trituradas em um moinho de facas, para que fiquem em textura de pó, atentando para limpeza do maquinário que garantam a independência entre amostras. Feito isso, as amostras serão pesadas e a partir dos pesos encontrados, iremos realizar uma padronização das amostras, visando futuramente o cálculo de rendimento. Depois serão armazenadas em sacos plásticos em uma câmara de armazenamento a 6° C no Centro de Sementes Nativas do Amazonas.

4.2.3. Coleta de folhas para análise genética

Serão selecionados 30 (trinta) indivíduos aleatoriamente para a coleta de duas folhas de Pau-rosa para posterior análise de DNA. Teremos um total de cento e cinquenta coletas de folhas dos cinco plantios analisados. As folhas serão acondicionadas em saco zip-lock com sílica gel, dentro de caixas de isopor com gelo para manter a viabilidade do material até a chegada ao Laboratório de Melhoramento Genético da UFAM. Chegando ao laboratório esse material será acondicionado em freezer.

4.3. Análise Laboratorial

4.3.1. Caracterização dendrométrica dos plantios inequiâneos

Será realizado um inventário florestal para cada plantio da área de estudo, onde posteriormente será comparado com os dados de inventário florestal que já existem no banco de dados do Centro de Sementes Nativas do Amazonas, que foi realizado em 2014, para assim ser possível realizar uma avaliação de crescimento e incremento desses plantios entre os dados de 2014 com os dados que serão coletados.

4.3.2. Quantificação de biomassa

A partir dos dados coletados no inventário florestal dos plantios de Pau-rosa, iremos quantificar a biomassa por método indireto, através das fórmulas desenvolvidas por Krainovic et al., (2017):

Volume (V):

$$V = 0,000071579 \times DAP^{1,624} \times H^{1,189}$$

Biomassa seca acima do solo (MSAS):

$$BSAS = 0,14867 \times DAP^{1,50003} \times H^{0,93917}$$

Biomassa fresca acima do solo (MFAS):

$$BFAS = 0,24537 \times DAP^{1,64861} \times H^{0,073956}$$

Biomassa seca na copa (BSC):

$$BSC = 0,4507 \times DAP^{1,1659} \times H^{0,2965}$$

Biomassa fresca na copa (BFC):

$$BFC = 0,94096 \times DAP^{1,28087} \times H^{0,07649}$$

4.3.3. Extração de óleo essencial

A extração do óleo essencial será realizada no Laboratório FITOPHAR da Universidade Federal do Amazonas, a partir da hidrodestilação, usando o sistema Clevenger em nível de bancada. As amostras serão pesadas e separadas entre folhas e galhos, onde serão analisadas de forma individual. Feito isso, iremos misturar o material vegetativo padronizado com água destilada em balão de vidro, na proporção de 100:1 (100 gramas de material vegetativo: 1 litro de água destilada) com capacidade de dois litros e hidrodestiladas a uma temperatura compatível com a ebulição suave do material dentro do balão. Todas as extrações serão realizadas com as mesmas mantas térmicas e no menor tempo possível, para reduzir variações que possam influenciar os resultados da destilação. Após cada destilação, o aparelho Clevenger será lavado com solução de acetato de hexano a 80%. As amostras oriundas da destilação, óleo essencial + água, serão secas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄).

Após a secagem o óleo essencial será pipetado para um frasco de vidro âmbar de 10 ml que foram fornecidos pelo Laboratório de Produtor Naturais (LPN) e GEQBiom (Grupo de Estudos Químicos de Biomoléculas), sendo levado para a pesagem em uma balança analítica de precisão. Após pesado o frasco será fechado com uma tampa de borracha envolta com papel alumínio, para que não haja contato da borracha com o óleo e por fora do frasco será colocado um plástico filme para evitar a possibilidade de qualquer vazamento de óleo. Sendo assim, os frascos de âmbar serão armazenados em pequenas caixas de isopor de 500 gramas e colocados em um freezer. Para o cálculo de rendimento das amostras (R%) será utilizado à relação entre a quantidade de óleo extraído e o peso padrão estabelecido para as amostras:

$$R(\%) = \frac{\text{peso do óleo essencial (g)}}{* \text{peso padrão (g)}} \times 100$$

* peso padrão (g) – peso estabelecido após as amostras passarem pelo moinho de facas.

4.3.4. Cromatografia gasosa GC-FID e GC-MS

As análises de GC-FID serão realizadas usando um equipamento cromatógrafo Shimadzu GC-17^a, equipado com um detector de ionização de

chama (FID) e um integrador eletrônico. A separação dos compostos foi realizada utilizando uma coluna capilar fundida com ZB-5MS (espessura do filme de 30m x 0,25 mm x 0,25 um) revestido com 5% de fenil-arileno-95% de dimetilpolisiloxano. Como gás transportador, utilizaremos gás hélio a uma taxa de fluxo de 1,0 ml.min. O programa de temperatura da coluna será de 40 ° C / 4min, a uma taxa de 4 ° C / min a 240 ° C, depois a 10 ° C / min a 280 ° C e a 280 ° C / 2min. As temperaturas do injetor e do detector serão de 250 ° C e 280°C, respectivamente. As amostras (10 mg.ml em CH₂CL₂) serão injetadas com uma proporção de 1:50. Os índices de retenção serão gerados com uma solução padrão de n-alcenos (C8-C18). As áreas de pico e os tempos de retenção terão um padrão único para permitir a comparação (KRAINOVIC et al., 2018). As quantidades relativas de compostos individuais serão calculadas a partir das áreas de pico de GC sem uma correção do fator de resposta do FID. As análises de GC-MS serão realizadas em um sistema de GC-MS Shimadzu QP5050A equipado com um auto-injetor AOC-20i. Utilizaremos como fase estacionária uma coluna capilar fundida J&W Scientific DB-5MS (revestida com 5% de fenil-95% de dimetilpolisilololano) (espessura do filme de 30m x 0,25 mm x 0,25 um) MS serão coletados a 70 eV com intervalos de varredura de 0,5s e fragmentos de 4-550 Da. As outras condições serão semelhantes à análise por GC. Os componentes do óleo essencial serão identificados pela comparação do tempo de retenção dos picos de GC com os compostos padrões executados em condições idênticas e pela comparação dos índices de retenção 20a, b e MS 20b com os da literatura e pela comparação dos MS com os armazenados no NIST e bibliotecas Wiley.

4.3.5. Extração de DNA

O DNA total será extraído de acordo com o protocolo do detergente catiônico CTAB 2X (Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide) descrito por Doyle e Doyle (1990). De cada uma das folhas coletadas será retirado 100 mg de tecido foliar, fragmentado em pedaços bem pequenos, e colocados em um microtubo de 2ml, onde será adicionado 800 µL de detergente de extração CTAB 2X e serão macerados com auxílio de um bastão de porcelana. O produto resultante da maceração de cada uma das amostras será depositado em tubo Eppendorf de 1,5 mL de capacidade, previamente identificado. Em

seguida, em cada amostra serão acrescentados 2 μ L de 2- β -mercaptoetanol 1% e estas serão colocadas em banho-maria a uma temperatura de 60°C, durante 30 minutos, sendo homogeneizadas a cada 10 minutos. Em seguida, serão colocadas para esfriar e logo após, será adicionado 600 μ L de Clorofórmio com Álcool Isoamílico, na proporção 24:1 (CIA). Depois, os tubos serão centrifugados a uma velocidade de 14.000 rpm por 12 minutos. Posteriormente, será pipetada toda a fase aquosa de cada uma das amostras, e transferida para um novo microtubo de 1,5 mL. Nesse tubo será adicionado 400 μ L de Isopropanol gelado (-20 °C) para permitir a precipitação do DNA. O material será incubado por 12 horas (overnight) a -20°C. Posteriormente, os tubos serão centrifugados a 7.500 rpm por 10 minutos, permitindo identificar o pellet no fundo do tubo. Logo será eliminado o Isopropanol. Na sequência serão acrescentados por duas vezes 1000 μ L de etanol absoluto a 70% no pellet de cada amostra por 10 minutos. Acrescenta-se uma única vez 1000 μ L de etanol absoluto a 100% por três minutos, retirando-se em seguida o máximo possível deste etanol. Em seguida, os tubos Eppendorf com o pellet serão colocados para secar na bancada a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, será adicionado 75 μ L de solução tampão TE (Tris-HCl e EDTA) acrescido de RNase na concentração de 10 μ g/mL. As amostras serão incubadas por duas horas a 37°C e vortexadas de 30 em 30 minutos para a digestão do RNase. O material final será armazenado a -20 °C.

4.3.6. Quantificação de DNA genômico

A quantificação do DNA genômico será realizada em gel de agarose 0,8% em tampão TBE 1X, através de comparações visuais com padrões de massa molecular de 50, 100 e 200 ng/ μ L de DNA do fago lambda. Os géis serão corados com o corante Blue Green (1mg/mL) para a visualização das bandas de DNA. A corrida de eletroforese será realizada a uma voltagem de 110 V durante o período de 60 minutos. O gel será fotografado e avaliado com auxílio de um fotodocumentador. Após a quantificação do DNA concentrado, será necessário diluir o DNA a uma concentração de 10 ng/ μ L com água milli-Q. O material final será armazenado a -20 °C.

4.3.7. Marcador molecular AFLP

A amplificação do marcador AFLP será realizada usando o protocolo de Vos et al. (1995), com modificações. A combinação das enzimas EcoRI/MseI será utilizada na digestão do DNA genômico. As reações de digestão serão realizadas utilizando 200 ng de DNA genômico (10 ng/μL), 5,0 μL do tampão “One Phor All” 10X (Amersham), 0,5 μL de albumina de soro bovino (BSA 100X) (10 μg/μL), 1,0 μL da enzima MseI (TTAA) (10 U/μL, New England Biolabs) e 0,5 μL da enzima EcoRI (GAATTC) (10 U/μL, Gibco) em volume final completado para 50 μL com água MilliQ autoclavada. As reações de digestão serão realizadas a 37 °C por três horas e inativadas a 70 °C por 15 minutos (Termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600).

Os adaptadores serão preparados em quantidade suficiente para ligações de 180 amostras. Para o preparo do adaptador EcoRI será utilizado 4,2 μL (5 pmol/μL) do adaptador “EcoRI oligo1” (5' – CTC GTA GAC TGC GTA CC – 3'), 3,6 μL (5 pmol/μL) do adaptador “EcoRI oligo2” (5' – AAT TGG TAC GCA GTC TAC – 3'), 6 μL do tampão OPA 10X (Amersham) e 106,2 μL de água Milli-Q autoclavada. No preparo do adaptador MseI serão utilizados 64,2 μL (50 pmol/μL) do adaptador “MseI oligo1” (5' – GAC GAT GAG TCC TGA G – 3'), 30,6 μL (50 pmol/μL) do adaptador “MseI oligo2” (5' – TAC TCA GGA CTC AT – 3'), 7 μL do tampão OPA 10X (Amersham) e 18,2 μL de água Milli-Q autoclavada. O perfil da reação para preparo dos adaptadores será de 65 °C por 10 minutos, 37 °C por 10 minutos e mais 25 °C por 10 minutos, realizada em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600, depois a reação será mantida a – 20 °C.

Os adaptadores serão ligados aos fragmentos de DNA em uma reação contendo 1 μL do tampão da T4 DNA Ligase, 1 μL dos adaptadores da enzima EcoRI, 1 μL dos adaptadores da enzima MseI, 1 μL de T4 DNA Ligase (1 U/μL, Invitrogen Life Technologies), 6 μL de água Milli-Q autoclavada e 50 μL da reação de digestão descrita acima. As reações de ligação serão realizadas a 23 °C durante três horas em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600. As amostras serão armazenadas a – 20 °C.

Os fragmentos de DNA serão amplificados em duas reações. Na primeira, denominada de pré-amplificação, serão utilizados os

oligonucleotídeos EcoRI + A (5' – GAC TGC GTA CCA ATT CA – 3') e EcoRI + T (5' – GAC TGC GTA CCA ATT CT – 3') combinados com Msel + C (5' – GAT GAG TCC TGA GTA AC – 3'), enquanto na segunda, denominada de amplificação seletiva, serão utilizados oligonucleotídeos para EcoRI com dois nucleotídeos adicionais em seu terminal 3' (EcoRI + AG, + AT, + TA e + TC) em combinação com o oligonucleotídeo Msel + C. Ambas as reações serão efetuadas em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600.

As reações de pré-amplificação serão compostas por 2,5 µL da amostra de DNA digerido e ligado aos adaptadores conforme descrito acima, 0,5 µL do oligonucleotídeo da enzima de corte raro (EcoRI + A ou EcoRI + T) (25 ng/µL), 0,5 µL do oligonucleotídeo da enzima de corte freqüente (Msel + C) (25 ng/µL), 0,4 µL de dNTPs (2,5 mM), 1 µL do tampão de PCR 10X, 1,2 µL MgCl₂ (25 mM), 0,3 µL de Taq DNA polimerase (5 U/µL) e 3,6 µL de água Milli-Q autoclavada. O programa de pré-amplificação será realizado com o seguinte perfil: 26 ciclos de amplificação após desnaturação inicial a 94 °C por dois minutos. Cada ciclo será constituído de um minuto a 94 °C (desnaturação), um minuto a 56 °C (anelamento) e um minuto a 72 °C (extensão). O ciclo final será seguido de cinco minutos a 72 °C. A reação será realizada em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600. Os produtos da pré-amplificação serão diluídos acrescentando-se 40 µL de água Milli-Q autoclavada e mantidas a – 20 °C.

As sequências dos oligonucleotídeos que serão utilizados na amplificação seletiva serão (EcoRI + AN e Msel + C). Nas reações de amplificação serão utilizados 1,5 µL do produto da pré-amplificação diluído, 1 µL do oligonucleotídeo (EcoRI + AN) (25 ng/µL), 1,2 µL do oligonucleotídeo Msel + C (25 ng/µL), 0,4 µL de dNTP (2,5 mM), 2 µL do tampão 10X da enzima, 1,2 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,2 µL de Taq DNA polimerase (5 U/µL) e 12,5 µL de água Milli-Q autoclavada. O programa de amplificação seletiva será de desnaturação inicial a 94 °C durante dois minutos, 12 ciclos compostos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 65 °C e um minuto a 72 °C seguidos de 23 ciclos compostos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 56 °C e um minuto a 72 °C. O ciclo final de extensão será de dois minutos a 72 °C.

A reação será realizada em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600 e depois mantidas a – 20 °C. Após a amplificação seletiva, as

amostras serão submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida [acrilamida/bisacrilamida (19:1) 6%, uréia 7,5 M, tampão 1X TEB] de 0,5 mm de espessura. Será utilizado o sistema eletroforético "Sequi-Gen GT" (Biorad) de 38 x 50 cm e pente para 65 amostras.

Às amostras, será adicionado 8 µL de tampão formamida (formamida 98%, EDTA 10 mM pH 8,0, azul de bromofenol 0,002% (p/v) e xileno cianol 0,002% p/v) e desnaturadas a 95 °C por cinco minutos em termociclador Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 9.600. O gel será submetido a uma eletroforese inicial ("pré-corrída") sob potência constante de 80 W por uma hora, a 50 °C e 3.000 V. Na parte superior da cuba será utilizado TEB 1X e, na parte inferior, TEB 1X/acetato de sódio 3 M. Uma vez aplicadas, as amostras serão submetidas à eletroforese sob as mesmas condições da pré-corrída durante 2h30.

Para revelação dos géis será utilizado o método de coloração com nitrato de prata seguindo o protocolo proposto por Creste et al. (2001).

4.3.8. Gel de poliacrilamida 6% em eletroforese vertical

Será preparada uma matriz de poliacrilamida 6% com volume de 600 mL (uréia 252 g, bis-acrilamida 1,8 g, acrilamida 36 g e TBE 1X 600 mL). Depois será filtrado em filtro millipore 0,45 µm e mantido em frasco escuro a – 4 °C.

A placa maior (base) será preparada para impedir a aderência do gel de poliacrilamida (será limpa duas vezes com etanol 95%, aplicado 1,5 mL de Repel-Silane ES e após cinco minutos limpo novamente com etanol 95%) e a placa menor preparada para aderência do gel (será limpa duas vezes com etanol 95%, aplicado solução Bind (1 mL de etanol 95%, 5 µL de ácido acético glacial e 5 µL de Bind Silane) e após cinco minutos limpo novamente com etanol 95%).

O gel de poliacrilamida será preparado com 120 mL da matriz de poliacrilamida, 120 µL de TEMED e 800 µL de APS (persulfato de amônio – 95 mg/mL) e aplicado imediatamente após colocar o APS, com seringa.

4.3.9. Revelação com coloração em nitrato de prata

Após a eletroforese vertical o gel será revelado em metodologia com cinco etapas principais (CRESTE et al., 2001):

- 1) A placa menor será colocada em bandeja contendo a solução de fixação (1% de ácido acético glacial, 10% de etanol absoluto e completar com água Milli-Q) e ficará por 10 minutos sob moderada agitação;
- 2) O gel será lavado com água destilada por um minuto;
- 3) A placa menor será exposta à solução de pré-tratamento (1,5% de ácido nítrico e completar com água Milli-Q) em bandeja por 2,40 minutos sob moderada agitação;
- 4) O gel será enxaguado em água destilada por um minuto;
- 5) O gel será impregnado em solução com nitrato de prata (0,2% de AgNO₃ e completar com água Milli-Q) por 20 minutos sob moderada agitação;
- 6) O gel será enxaguado em água destilada por 30 segundos, duas vezes;
- 7) O gel será exposto à solução reveladora (30 g/L de carbonato de sódio (Na₂CO₃); 0,54 mL/L de formaldeído 37% e completar com água Milli-Q – a solução será preparada no dia de uso e mantida a – 4 °C), sob moderada agitação até revelar os fragmentos amplificados;
- 8) A revelação será interrompida ao se colocar o gel em solução bloqueadora (5% de ácido acético glacial e completar com água Milli-Q) por cinco minutos sob moderada agitação;
- 9) O gel será lavado com água destilada por um minuto;
- 10) A placa menor com o gel será colocada em temperatura ambiente para secar e posterior leitura.

4.4. Métodos estatísticos e análises

4.4.1. Caracterização dendrométrica dos plantios inequiâneos

Para realizar a avaliação de crescimento e incremento dos plantios comparando as medições de 2014 com as que serão coletadas, utilizaremos a estatística inferencial, lançando mão das medidas de dispersão entre esses dois conjuntos de dados. Todas as análises e produção de materiais gráficos serão realizadas usando o software R (R Core Team, 2018).

4.4.2. Quantificação da Biomassa e produtividade

Para o cálculo preliminar de produtividade por plantio, usaremos equações de estimativa de biomassa de Pau-rosa desenvolvidas por Krainovic et al. (2017), as quais serão a base para que possamos, a partir do rendimento em óleo essencial, seja possível determinar o volume de óleo estimado por unidade de produção. Todas as análises e produção de materiais gráficos serão realizadas usando o software R (R Core Team, 2018).

4.4.3. Análise Química

Para facilitar as análises, iremos separar o material inicialmente por origem geográfica, idade do plantio e parte da planta do mesmo indivíduo, identificando se são do terço superior ou do terço inferior da copa. Dessa forma, começaremos de forma macro até a separação mais específica. No momento das análises no CG acontecerá de forma inversa ao mencionado na separação. Começaremos de forma micro até atingir o macro, ou seja, por parte da planta de um mesmo indivíduo, identificando se são do terço superior ou do terço inferior da copa. Quando estiverem esgotadas as análises referentes ao indivíduo X, iremos começar as análises do indivíduo Y. Idade de plantio e por fim, passaremos para o nível de origem geográfica.

Dessa forma a separação do material ficará:

1. Origem geográfica;
2. Idade dos plantios;
3. Partes do mesmo indivíduo (folha ou galho), subdividindo se são do terço superior ou terço inferior da copa.

As análises como mencionado anteriormente serão o inverso:

1. Partes do mesmo indivíduo (folha ou galho), subdividindo se são do terço superior ou terço inferior da copa;
2. Idade dos plantios;
3. Origem geográfica.

Sendo assim, será possível determinar se as diferenças entre os óleos essenciais dependerão ou não da parte da planta, idade do plantio ou origem geográfica. Realizaremos análise da variância seguida do teste de médias (post-hoc) mais adequado para o comportamento dos dados quanto a homogeneidade da variância, normalidade e independência das amostras para diferenciar o material vegetativo oriundo do terço superior da copa e do terço inferior da copa.

Faremos análises multivariadas para exploração dos dados: PCA (principal component analysis), agrupamento e escalonamento multidimensional não métrico (NMDS). Com a NMDS trabalharemos a presença e ausência de constituintes químicos, ao passo em que as diferenças entre proporções relativas serão contempladas pela análise de agrupamento.

Com relação à qualidade do óleo, no que diz respeito aos constituintes químicos de destaque nas análises multivariadas, será feita uma análise de variância (ANOVA) seguida por teste de média entre suas proporções relativas presentes nos óleos de diferentes partes da planta e idades. Todas as análises e produção de materiais gráficos serão realizadas usando o software R (R Core Team, 2018).

4.4.4. Análise Genética

4.4.4.1. Análise de estrutura populacional

A estrutura populacional dos isolados de *Aniba rosaeodora* Ducke das cinco subpopulações foi definida como **Barreirinha**: Sra. Jucilene, plantio de (B12) doze anos e Sr. Portuga, plantio de (B13) treze anos / **Maués**: Sr. Carlos, plantio de (M7) sete anos e Sr. Edanderson, plantio de (M10) dez anos / **Parintins**: Sr. Tuchaua Rosê, plantio de (P22) vinte e dois anos para agrupar os isolados de cada localidade amostrada. Os níveis de diferenças moleculares entre as populações serão observados utilizando a análise de variância molecular (AMOVA) (EXCOFFIER et al., 1992) e teste de Mantel (MANTEL, 1967) por meio das ferramentas disponíveis no software Arlequin versão 3.1 (SCHNEIDER et al., 2006). Nesta análise, a diversidade genética total será analisada em dois níveis hierárquicos, diferença entre populações e entre isolados dentro da população. O índice de fixação (FST) considera apenas as diferenças na frequência dos haplótipos, entretanto, segundo Wright (1978)

para valores de FST significativamente diferentes de zero, quando superiores a 0,05 são considerados indicadores de alta estruturação populacional e abaixo, indicam baixa estruturação.

4.4.4.2. Análise de similaridade genética por meio de AFLP

Os métodos fenéticos utilizam distâncias métricas e são eficientes para resumir informações sobre variação de frequências gênicas entre populações, estabelecendo relações de similaridade entre táxons.

A análise de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average ou média aritmética entre pares não ponderados) é um método fenético com modelo de agrupamento hierárquico e a análise da variabilidade genética realiza-se com os agrupamentos das linhagens segundo os princípios adotados em taxonomia numérica.

Nesse método, árvores são elaboradas a partir de matrizes de distância e grupos de táxons são sucessivamente agrupados conforme o nível de similaridade propiciando a elaboração de dendrogramas.

Após a união do par de táxons mais semelhante, este passa a ser considerado um novo táxon e esse processo se repete até a incorporação de todos os táxons ao dendrograma. Para essa análise, será utilizado o coeficiente de similaridade de Jaccard.

Esse coeficiente desconsidera concordâncias negativas e permite calcular similaridade com base em variáveis binárias (0 (zero) para ausência e 1 (um) para presença de bandas) (SNEATH e SOKAL, 1973).

As similaridades genéticas entre todos os isolados tomados dois a dois serão calculadas pelo coeficiente de Jaccard:

$$J(x,y) = a/(n-d)$$

onde x e y representam isolados, a representa o número de fragmentos em comum entre dois isolados, n o número total de fragmentos avaliados e d o número de fragmentos ausentes nos dois isolados. Estes valores serão utilizados para a obtenção de uma segunda matriz que, por sua vez, será submetida à análise de cluster pelo método não ponderado de agrupamento de pares utilizando a média aritmética UPGMA, cujo resultado pode ser visualizado na forma gráfica de um dendrograma. Todos os cálculos de similaridades e construção do dendrograma serão efetuados com auxílio do

programa de computador NTSYS-PC (Numerical Taxonomy System of Multivariate Programs) (ROHLF, 1998). A consistência das ramificações do dendrograma será verificada por meio da técnica de amostragem repetitiva de dados (“bootstrapping”) (RUSSO et al., 2001).

5. RESULTADOS ESPERADOS

Objetivo específico 1: Caracterização dendrométrica de plantios inequiâneos e produção de biomassa;

Estudos realizados por Sampaio et al., (2005), Takeda et al., (2008), Krainovic et al., (2011;2017), Lara et al., (2012), mostraram que é rentável a extração de óleo essencial a partir da copa da árvore. Logo no presente estudo esperamos encontrar a mesma afirmativa, a partir dos dados coletados dos plantios.

Objetivo específico 2: Comparar o rendimento de OE entre folhas e galhos finos de plantios inequiâneos.

Estudos realizados por Oashi et al., (1997), Chaar (2000) e Chantraine et al., (2009) mostram um rendimento de galhos maior que de folhas, o que não foi observado por Takeda et al., (2008) e Krainovic et al., (2017), onde observaram um rendimento de folhas maior em relação aos galhos. A inexistência de padronização da metodologia de destilação do OE gera diferentes rendimentos, no entanto como nossa metodologia de coleta foi baseada em Chaar (2000), esperamos que a tendência seja que encontremos maiores rendimentos dos galhos em relação às folhas.

Objetivo específico 3: Avaliar a influência da insolação na composição química do OE.

Estudo realizado por Rosato et al (2010) mostraram diferenças de constituintes químicos entre folhas de sol e sombra de seringueira. Dessa forma esperamos que nas folhas de Pau-rosa apresente diferenças entre componentes químicos a partir da influência da insolação.

Objetivo específico 4: Determinar a composição química do OE dentro e entre plantios inequiâneos.

Lara et al., (2012) e Krainovic et al. (2017) observaram diferentes componentes químicos quando avaliaram o óleo essencial de plantios de Pau-rosa de diferentes idades, logo esperamos que essa diferenciação de componentes ocorra em nossas análises.

Objetivo específico 5: Analisar a variabilidade genética dentro e entre populações de Pau-rosa.

Estudo realizado por Santos et al., (2008) e Angrizani et al., (2013) mostram grande variabilidade genética dos plantios de Pau-rosa estudados, resultado esse que esperamos encontrar dentro e entre as populações estudadas.

6. CRONOGRAMA

Tabela 1: Cronograma de execução de atividades

Atividades	2019												2020												2021			
	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	Z	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	
Revisão bibliográfica			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Elaboração do projeto			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
Coleta em Maués	X																											
Coleta em Barreirinha		X								X																		
Coleta em Parintins		X										X																
Triturar o material	X	X								X	X																	
Extração de Óleo					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X														
Análise Química																			X									
Extração de Dna																			X									
Análise de Variabilidade Genética																				X								
Processamento de dados e análises																					X	X	X	X	X			
Qualificação																		X										
Submissão de artigo																											X	
Defesa																											X	

7. ORÇAMENTO

Ida a Campo Maués			
Item	Qtd	Valor	Total
Passagem	10	R\$ 100,00	R\$ 1.000,00
Óleo Diesel	170	R\$ 4,59	R\$ 780,30
Gasolina Comum	100	R\$ 4,82	R\$ 482,00
Ursa La3	6	R\$ 18,00	R\$ 108,00
2T Marina	3	R\$ 35,00	R\$ 105,00
Botija de gás	1	R\$ 90,00	R\$ 90,00
Rémedios	-	-	R\$ 113,68
Almoço 18.2.2019	4	R\$ 13,00	R\$ 52,00
Almoço 25.2.2019	4	R\$ 13,50	R\$ 54,00
Rancho	-	-	R\$ 594,69
Hospedagem	5	-	R\$ 290,00
Cozinheira	1	R\$ 720,00	R\$ 720,00
Piloteiro	1	R\$ 720,00	R\$ 720,00
Total			R\$ 5.109,67
Ida a Campo Parintins/Barreirinha			
Item	Qtd	Valor	Total
Passagem ida	4	R\$ 100,00	R\$ 400,00
Passagem volta	4	R\$ 80,00	R\$ 320,00
Instru. Técnico mat de consumo	-	-	R\$ 500,80
Rancho- alimentação	-	-	R\$ 1.013,70
Cozinheiro	1	R\$ 1.440,00	R\$ 1.440,00
Piloteiro	1	R\$ 1.440,00	R\$ 1.440,00
Total			R\$ 5.114,50
Orçamento Geral		Maués	Parintins/Barreirinha
		R\$ 5.109,67	R\$ 5.114,50
Total			R\$ 10.224,17

Estudo vinculado ao projeto: Consolidação do Plano de Manejo de pau-rosa (*Aniba roseadora* Ducke), na terra indígena Sateré Mawé.

EDITAL N. 002/2018 - UNIVERSAL AMAZONAS - FAPEAM

Coordenador: PhD. Manuel de Jesus Vieira Lima Júnior.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, J.C. e FERNANDES, N.P. Desenvolvimento de árvores nativas em ensaios de espécies. I. Pau-rosa (**Aniba duckei** kostermans). **Acta Amazônica**, v.8, n.4, p.523-541. 1978.
- ALMEIDA, Alfredo Wagner Berno de. A reconfiguração das agroestratégias: novo capítulo da guerra ecológica. Terras e Territórios na Amazônia. Brasília: **UNB/Abaré**, p. 40, 2011.
- AMARAL, I.L.; MATOS, F.D.; LIMA, J. Composição florística e parâmetros estruturais de um hectare de floresta densa de terra firme no Rio Uatumã, Amazônia, Brasil. **Acta Amazônica**, 30 (3): 377-392. 2000.
- ANGRIZANI, R.C.; CONTIM, L.A.S.; LEMES, M.R. Development and Characterization of Microsatellite Markers for the Endangered Amazonian Tree *Aniba rosaeodora* (Lauraceae). **Applications in Plant Sciences**, v. 1, n. 9, 2013.
- ARAÚJO, V.C. Fenologia de essências florestais amazônicas. Bol. Pesq. Florestais 4, **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA**, Manaus. 1970.
- BARBOSA, A. S. da M. et al. Testando delimitação de espécies em monografias—um estudo de caso em *Aniba Aubl.*(Lauraceae). **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA**. Manaus. 2016.
- BARBOSA, A.P. Comunicação Pessoal. Workshop sobre o pau-rosa, realizado nos dias 24 e 25 de novembro de 2008, na sede do **IBAMA**.
- BASTOS, A. M. O pau-rosa da indústria da essência. **Rodriguésia**, v. 7, n. 16, p.45-54, 1943.
- BENCHIMOL, S. Amazônia: um pouco – antes e além – depois. Manaus: Ed. Umberto Calderaro, 841 p. (**Amazoniana**, 1). 1977.
- BENZAQUEM, D.C. Estudo do polimorfismo genético de espécies do gênero *Aniba* (Lauraceae) utilizando marcadores ISSRs. **Dissertação apresentada a Universidade do Estado do Amazonas como parte da exigência do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais**. Manaus. 2009.

BRAGA, P. I. S.. Subdivisão fitogeográfica, tipos de vegetação, conservação e inventário florístico da floresta amazônica. **Acta amazônica**, v. 9, n. 4, p. 53-80, 1979.

BRASIL. Decreto nº 93.069, de 06 de agosto de 1986. Homologa a demarcação administrativa da Terra Indígena Andirá Maráú. Publicado no Diário Oficial da União de 07 de agosto de 1986.

BRASIL. Decreto nº 6.040, de 7 de Fevereiro de 2007. Institui a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável dos Povos e Comunidades Tradicionais. Brasília. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento . Bioeconomia da floresta : a conjuntura da produção florestal não madeireira no Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento . Serviço Florestal Brasileiro. – Brasília : MAPA/SFB, 8 4 p. 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Plano de ação para a prevenção e controle do desmatamento na Amazônia legal, Brasília. 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Produtos Madeireiros e Não Madeireiros. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/florestas/manejo-florestal-sustentavel/produtos-madeireiros-e-nao-madeireiros>>. Acesso em 05/05/2020.

BRASIL. Portaria Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Nº 06-N de 15 de Janeiro de 1992. Reconhece como Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção.

BRASIL. Portaria Ministério do Meio Ambiente nº 443, de 17 de Dezembro de 2014. Reconhece como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção".

BRASIL. Serviço Florestal Brasileiro. Florestas Comunitárias. 2016. Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/florestas-comunitarias>>. Acesso em: 08/05/2020.

BRASIL. Subchefia de Assuntos Jurídicos. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. Institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação e dá outras providências.

BRULEAUX, A.M. Deux productions passes de la forêt guyanaises: l' essence de bois de rose et la gome de balata. **Bois et Forêts des Tropiques**, n. 219, p. 99-113. 1990.

CAMARGO, J.L.C et al. Guia de Propágulos e Plântulas da Amazônia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Vol 1. Manaus: **Editora INPA**, p.82. 2008.

CAMARGO, J.L.C. e FERRAZ, I.D.K. Notas taxonômicas e morfológicas de *Aniba rosaeodora* Ducke. In SAMPAIO, P.T.B. et al. Uso e Conservação do Pau-rosa. 1º. Ed. Manaus: **EDUA**, cap. 1, p.9. 2016.

CANALEZ, G.G. et al. Cartilha: Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) – Ecologia, Usos e Saberes. **Universidade Federal do Amazonas**; Projeto Pau-rosa – PNGATI / Consórcio dos Produtos Sateré-Mawé – CPSM. Manaus, 2007.

CGEE - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Um projeto para a Amazônia no século 21: desafios e contribuições. Brasília: **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**, 2009. 426 p.

CHAAR, J. da S. Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie *Aniba Duckei* Kostermans. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**. 2000.

CHANTRAINE, J. M., DHÉNIN, J. M., & MORETTI, C. Chemical variability of rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) essential oil in french guiana. **Journal of Essential Oil Research**, 21(6), 486-495. 2009.

CITES, E. C. O. S. O. Convention on International trade in endangered species of wild fauna and flora, 2010. Disponível em: <http://www.cites.org/esp/app/appendices.shtml>. 5. Acesso em: 03/05/2020.

CONTE, R.; Reis. M. S. dos.; MANTOVANI, A. e VENCOVSKY, R. Genetic Structure and Mating System of *Euterpe edulis* Mart. Populations: A Comparative Analysis Using Microsatellite and Allozyme Markers. **Journal of Heredity**,10:1-7. 2008.

CONTIM, L. A. S. et al. Nuclear DNA content and karyotype of Rosewood (Aniba rosaeodora Ducke). **Genetics Molecular Biology**, 4:754-757. 2005.

COUTO, R. Plano Municipal de Desenvolvimento Rural Sustentável: Parintins–AM, 2005-2012/Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar. Projeto de Apoio aos Pequenos Produtores Rurais do Estado do Amazonas–Manaus: **Ibama, ProVárzea**, 2005.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 299-306. 2001.

DESCOLA, P. “Limites ecológicos e sociais do desenvolvimento da Amazônia”. In: BOLOGNA, G. (org.) Amazônia Adeus. Rio de Janeiro. Ed. **Nova Fronteira**, deus 1990.

DEZORDI, C. e TEIXEIRA, W.G. EMBRAPA, SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO NA et al. Integrando esforços para o desenvolvimento da **Amazônia. Embrapa Amazônia Ocidental** 2009. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/informma/item/616-preven%C3%A7%C3%A3o-e-controle-do-desmatamento-na-amaz%C3%B4nia.html>>. Acesso em: 03/05/2020.

DIEGUES, A.C.; ARRUDA, R.S.V.(Org). Saberes tradicionais e biodiversidade no Brasil. Brasília: **Ministérios do Meio Ambiente**. 2001.

Doyle, JJ e JL Doyle 1990. Isolamento do DNA da planta do tecido fresco. **Foco 12: 13–15**.

DUCKE, A. Lauraceae arompaticas do Amazonas. **Reunião Sul Americana de Botânica** 3: 55-74. 1938.

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

FAO. Bancos de dados estatísticos da FAO FAOSTAT. 2014. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/>. Acessado em 05/05/2020.

FEARNSIDE, P. M. A Floresta Amazônica nas Mudanças Globais. Manaus, AM: **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)**, 134p, 2003a.

FEARNSIDE, P. M. Deforestation in Brazilian Amazonia: history, rates, and consequences. **Conservation biology**, v. 19, n. 3, p. 680-688, 2005.

FEARNSIDE, P.M. Spatial concentration of deforestation in the Brazilian Amazon. **Ambio**, 15(2):74-81. 1986.

FIDELIS, C. H., AUGUSTO, F., SAMPAIO, P. T., KRAINOVIC, P. M., & BARATA, L. E. Chemical characterization of rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) leaf essential oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with quadrupole mass spectrometry. **Journal of Essential Oil Research**, 24(3), 245-251. 2012.

FIDELIS, C. H., SAMPAIO, P. T., KRAINOVIC, P. M., AUGUSTO, F., & BARATA, L. E. Correlation between maturity of tree and gcx gc-qms chemical profiles of essential oil from leaves of *Aniba rosaeodora* Ducke. **MICROCHEMICAL JOURNAL**, 109, 73-77. 2013.

FIEDLER, N. C.; SOARES, T. S.; DA SILVA, G. F. Produtos florestais não madeireiros: importância e manejo sustentável da floresta. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 10, n. 2, p. 263-278, 2008.

FITTKAU, E. J.; et al., biomass, and population dynamics in Amazonian water bodies. **TROPICAL ECOLOGICAL SYSTEMS** 289-311. DOI: 10.1007/978-3-642-88533-4_20. 1975.

GIBAS, C.; JAMBECK, P. Desenvolvendo Bioinformática: ferramentas de software para aplicações em biologia. Tradução: Cristina de Amorim Machado. Campus, **Rio de Janeiro**, 440p. 2001.

GONÇALVES, J.F.C et al. Growth, photosyntheses and stress indicators in Young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. **Braslian journal Plant Physiology**, v.17, n.3, p.325-334, 2005.

GOTTLIEB, O.R. Pau-rosa, potencial de riqueza. **Revista de Química Industrial**. Rio de Janeiro, v.26, n. 307, p 15-18. 1957.

GRANT, V. The Origin of adaptations. New York: **Columbia University Press**, 606p. 1963.

GUERRA, F. G. P. de Q. Contribuição dos Produtos Florestais Não Madeireiros na geração de renda na Floresta nacional do Tapajós-Pará. Tese de

Doutorado. Dissertação (Mestrado). **Universidade Federal do Paraná, Curitiba**. 2008

HIGUCHI, N. O desmatamento insustentável na Amazônia. **Ciência Hoje**. V. 9, p. 67-71, Ed. Novembro – 2006.

HOMMA, A. K. O. O extrativismo do óleo essencial de pau-rosa na Amazônia. **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**. 2003.

HOMMA, A.K.O. Extrativismo do óleo essencial de pau-rosa na Amazônia. Extrativismo Vegetal na Amazônia: histórico, ecologia, economia e domesticação. 1°. Ed. Brasília: **EMBRAPA**. Cap. 3, p.75-94. 2014.

HOMMA, A.K.O. Políticas para expansão do plantio de pau-rosa na Amazônia. In: SAMPAIO, P.T.B. et al. Uso e Conservação do Pau-rosa. 1°. Ed. Manaus: **EDUA**. Cap. 11, p.151-152. 2016.

IUCN, The IUCN Red List of Threatened Species, Version 2014.3 (IUCN, 2014); Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em 03/05/2020.

KITAMURA, P. C. Biodiversidade na Amazônia: por uma abordagem regional das unidades de conservação. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2001.

KRAINOVIC, P. M.; ALMEIDA, D., e SAMPAIO, P. New allometric equations to support sustainable plantation management of rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) in the Central Amazon. **Forests**, 8(9), 327. 2017.

KRAINOVIC, P.M. et al. Changes in rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) essential oil in response to management of commercial plantations in Central Amazonia. **Forest Ecology and Management** 429 (2018) 143-157. 2018.

KRAINOVIC, P.M. Plantios de Rosewood (*Aniba rosaeodora* ducke) em áreas com histórico de degradação por atividades agrícolas e pecuárias. Master dissertation. (in Portuguese) **Instituto Nacional de pesquisas da Amazônia. Manaus**, Brasil. 2011.

KUBITZKI, K. e KURZ, H. Synchronized diachogamy and dioecy in neotropical Lauraceae. **Plant Systematics and Evolution**, v.147, p.253-266. 1984.

KUBITZKI, K. e RENNER, S. Lauraceae 1 (Aniba and Aiouea). Flora Neotropica. Monograph 31. **Botanical Garden**. New York, US. 125p. 1982.

LARA, C.S. Produção e variabilidade química do óleo essencial de folhas e galhos finos de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), em duas populações naturais localizadas na Amazônia Central. **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA**. Manaus. 2012.

LEITE, A.M.C. et al. Diretrizes para o resgate e conservação da variabilidade genética de espécies amazônicas I Pau-rosa. **EMBRAPA**, ISSN 1517-3135, 30p. 1999.

LEITE, A.M.C; QUISEN, R.C.; SAMPAIO, P.T.B. Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke, Lauraceae): informações sobre o sistema de plantio e o manejo sustentável da espécie. **Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental**, 2001.

LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, **Instituto Plantarum**. 2008.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: **Plantarum**, v.2. 1998.

LOUREIRO, A. A. Considerações sobre problemas florestais da Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, 9.4: 147-153. 1979.

LUPE, Fernanda Avila. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazonia. 126p. Dissertação (mestrado) - **Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP**. 2007.

MAFFEO, A. J. La Guerra de Yom Kippur y la crisis del petróleo de 1973. **Revista Relaciones Internacionales**, v. 25, p. 2-6, 2003.

MAGALHÃES, L.M.S. e ALENCAR, J.C. Fenologia do pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans), Lauraceae, em floresta primária na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v.9, n.2, p. 227-232. 1979.

MAIA, J.G.S. et al. Plant sources of Amazon rosewood oil. **Química Nova**, v.30, n.8, p.1906-1910, 2007.

MANTEL, N. A detecção de aglomerados de doenças e uma abordagem de regressão generalizada. **Cancer Res** 27: 209-220. 1967.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research** 27: 209-220. 1967.

MAY, P.H.; BARATA, L.E.S. Rosewood exploitation in the Brazilian Amazon: options for sustainable production. **Economic Botany**, v.58, n.2, p.257-265, 2004.

MITJA, D., e LESCURE, J. P. Du bois pour da parfum: le bois de rose doit-il dispara~ tre. Le for~ t en jeu l'extrativisme en Amazonie Centrale. **UNESCOORSTOM**, Paris, 93-102. 1996

OHASHI, S.T.; ROSA, L. dos. S.; MEKDECE, F. S. Influência do diâmetro e da altura de corte das cepas na brotação de pau-rosa (Aniba rosaeodora Ducke). **Ciências Agrárias**. Belém, n. 41, p. 137-144, jan./jun. 2004.

OHASHI, S.T.; ROSA, L.S.; SANTANA, J.A. Brazilian pau-rosa oil: sustainable production and oil quality managment. **Perfume & Flavorist**, v. 22, p. 1-5. 1997.

OLIVEIRA, A.A. Inventários quantitativos de árvores em florestas de terra firme: revisão com enfoque na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica** 30 (4): 543-567. 2000.

Organización del Tratado de Cooperación Amazónica (OTCA). Nuestra Amazonia. 1998. Disponível em: http://www.otca-oficial.info/amazon/our_amazon. Acesso em: 02/05/2020.

PARCEIROS PELA AMAZÔNIA (PPA). BIOECONOMIA: UMA CHAVE DE DESENVOLVIMENTO POTENTE E SUSTENTÁVEL PARA A AMAZÔNIA. 2019. Disponível em: <https://ppa.org.br/2019/11/29/bioeconomia-uma-chave-de-desenvolvimento-potente-e-sustentavel-para-a-amazonia/>. Acesso em:12/05/2020.

PEDROSO, L.M.A. Silvicultura do pau-rosa (Aniba rosaeodora Ducke). In: Simpósio do Trópico Úmido, 1., 1984, Belém, PA. Flora e flores. **EMBRAPACPATU**, p. 313-328. 1986.

PFENNINGER, M.; POSADA, D. Phylogeografic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicellianae, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. **Evolution**, v.56. 2002.

PINTO, A. C. M. Dinâmica de uma floresta de terra firme manejada experimentalmente na região de Manaus (AM). **Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM**. 2008.

RIBEIRO, J.E.L.S. et al. Flora da Reserva Florestal Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: **INPA**. 816p. 1999.

ROHLF, F.J. NTSYS – PC Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Applied Biostatistics, Inc. **Exerter Publishing**, New York, 218p. 1998.

ROHLF, F.J. NTSYS – PC Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Applied Biostatistics, Inc. **Exerter Publishing**, New York, 218p. 1998.

ROSSATTO, D. R., et al. Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 24.3: 640-647. 2010.

RUSSO, C.A.M.; MIYAKI, C.Y.; PEREIRA, S.L. Reconstrução filogenética: métodos geométricos. In: **Biologia Molecular e Evolução**. MATIOLI, S.R. (ed.). Ribeirão Preto, São Paulo, p.108-16. 2001.

SALISBURY, D.; SCHMINK, M. Cows versus rubber: Changing livelihoods among Amazonian extractivists. **Geoforum**, v. 38, n. 6, p. 1233 – 1249, 2007.

SAMPAIO, P. T. B., et al. Regeneração natural como propágulos para produção de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em viveiro. In: **Embrapa Amazônia Ocidental-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: WORKSHOP INTERMEDIÁRIO DO PROJETO JACARANDA-FASE II, 2000, Manaus, AM.

SAMPAIO, P.T.B. et al. Avaliação da rebrota da copa das árvores de Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em sistema de podas sucessivas. **Acta Amazonica** 37 (1): 55-60. 2007.

SAMPAIO, P.T.B. et al. Biomassa da rebrota de copas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios sob sombra parcial em floresta primária. **Acta Amazonica**, vol 35 (4), p. 491-494. 2005.

SAMPAIO, P.T.B. et al. Rosewood - Aniba rosaeodora D.ucke – Lauraceae. Manual de sementes da Amazônia (3). 7 pp. **INPA**. 2003.

SANTOS, E. R. Q. et al. Óleos essenciais ricos em linalol (Aniba Rosaeodora, A. Parviflora e Aeollanthus Suaveolens) na Amazônia e seus efeitos neurocomportamentais em roedores. Dissertação apresentada ao Programa de **Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará**. 2017.

SANTOS, R.P. et al. Geographic pattern of genetic diversity in natural populations of Rosewood (Aniba rosaeodora), in the Central Amazonia. **Acta Amazônica**, vol 38 (3), p.459-466. 2008.

SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L.; LAVAL, G. Arlequin Version 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), **Institute of Zoology, University of Berne**. Adquirido de: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>. 2006.

SILVA, A. T. R. Áreas protegidas, populações tradicionais da amazônia e novos arranjos conservacionistas. **Revista Brasileira de Ciências Sociais**, v. 34, n. 99, 2019.

SILVA, M. A. P. et al. Plano Territorial de Desenvolvimento Rural Sustentável do Baixo Amazonas. **Cáritas Arquidiocesana de Manaus**. Estudo Técnico – Manaus. 138. 2010.

SILVA, R. P.G. et al. Estudo morfossintático da língua Sateré-Mawé. 2010. Tese apresentada ao Instituto de Estudos da Linguagem da **Universidade Estadual de Campinas**. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/270868/1/Silva_RayniceGeraldinePereirada_D.pdf> Acesso em: 05/05/2020.

SKOLE, D.; TUCKER, C. 1993. Tropical deforestation and habitat fragmentation in the Amazon. Satellite data from 1978 to 1988. **Forest Science**, Lawrence, v. 260 p. 1905-1910, 1993.

SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. Numerical taxonomic. **San Francisco: W.R. Freeman**, 573p. 1973.

SPIRONELLO et al. Ecologia reprodutiva do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke, Lauraceae) em uma mata de terra-firme na Amazônia Central. In: HIGUCHI, N et al. (Eds). Projeto Jacaranda: Fase II. Manaus: **CPST/INPA**, 252p. 2003.

SPIRONELLO, et al. Ecologia reprodutiva, manejo e conservação do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). In: **Anais do V Congresso de Ecologia do Brasil**. Porto Alegre, RS. p. 289. 2001.

TAKEDA, P. S. Avaliação de biomassa e óleo de rebrotas de galhos e folhas de Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios comerciais submetidos à poda e adubação. Masters Theses, National Institute of Amazonian Research (INPA), Manaus, 73 p. 2008.

TER STEEGE, H. et al. Hyperdominance in the Amazonian tree flora. **Science**, v. 342, n. 6156. 2013.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://legacy.tropicos.org/name/100448901>> Acesso em: 05/05/2020.

VOS, P. et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, nº 21, p. 4407-4414. 1995.

WRIGHT, S. Evolution and the genetics of populations. **The University of Chicago Press**, London. 1978.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetics consequences of habitat fragmentation for plants. **Tree**, v. 11, n. 10, p. 413-418. 1996.