



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E GRADUAÇÃO
CENTRO DE ESTUDOS DA BIODIVERSIDADE

RAÍSSA MARIA SAMPAIO DE PAIVA

LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E OBTENÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO DE
MACRÓFITAS AQUÁTICAS DAS GRADES DO PPBIO - RORAIMA

Boa Vista, RR
2012

RAÍSSA MARIA SAMPAIO DE PAIVA

**LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E OBTENÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO DE
MACRÓFITAS AQUÁTICAS DAS GRADES DO PPBIO - RORAIMA**

Monografia apresentada como pré-requisito para a conclusão do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, com ênfase em Limnologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lucilia Dias Pacobahyba

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Fabiana Granja

Boa Vista, RR
2012

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima)

P1491 Paiva, Raíssa Maria Sampaio de.
Levantamento florístico e obtenção do material genético de macrófitas
aquáticas das grades do PPBio - Roraima / Raíssa Maria Sampaio de
Paiva – Boa Vista, 2012.
73 p. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Lucília Dias Pacobahyba.

Co-orientadora: Profa. Dra. Fabiana Granja.

Monografia (graduação) – Universidade Federal de Roraima, Curso
de Bacharelado em Ciências Biológicas.

1 – Amazônia. 2 – DNA vegetal. 3 – Plantas aquáticas. I Título. II
– Pacobahyba, Lucília Dias (orientadora).

CDU – 581.526.3

RAÍSSA MARIA SAMPAIO DE PAIVA

**LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E OBTENÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO DE
MACRÓFITAS AQUÁTICAS DAS GRADES DO PPBIO - RORAIMA**

Monografia apresentada como pré-requisito para a conclusão do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, com ênfase em Limnologia. Defendida em 02 de julho de 2012 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Lucília Dias Pacobahyba
Orientadora/Universidade Federal de Roraima

Prof.^a Dr.^a Flávia Antunes
Universidade Estadual de Roraima

Prof.^a MSc. Roseanie de Lyra Santiago
Universidade Federal de Roraima

*Aos meus queridos avós Marcelo,
Marinete, Rida e Thamires*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado esta oportunidade, ter me guiado e me proporcionado esse início da minha vida profissional.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e a Universidade Federal de Roraima por todo apoio logístico para o desenvolvimento do trabalho. Ao Centro de Estudos da Biodiversidade (CBio) pela infraestrutura disponibilizada para execução da pesquisa.

À minha orientadora e amiga Prof. Dr.^a Lucilia Dias Pacobahyba por te acreditado em mim desde o começo do curso, ter me dado esta oportunidade, aberto portas para que eu trilhe o meu caminho nesta longa jornada, além é claro da paciência, generosidade, ensinamentos e a quem eu devo todo meu início nesta profissão.

À minha co-orientadora e amiga Prof. Dr.^a Fabiana Granja por ter embarcado nesta ideia e ter feito de tudo pra que ela desse certo. Seus ensinamentos e paixão pela Biologia molecular me fizeram ter o mesmo olhar sobre ela. Agradeço do fundo do meu coração!!

À professora Flávia Antunes da Universidade estadual de Roraima que têm parte neste trabalho e que nos proporcionou dar início a toda extração de DNA pela sua experiência nesta área com plantas. Obrigada por ter-lá compartilhado conosco. Sem sua ajuda nada seria possível.

A todo o quadro de professores do CBio pelo aprendizado repassado durante todo o curso, em especial aos professores Rodrigo Schütz e Albanita Rodrigues pelo auxílio nas identificações e a professora Rose de Lira Santiago por ter me ajudado e aceitado participar da banca.

Ao técnico Márcio Texeira pela sua imensa ajuda e experiência em campo facilitando todo o meu trabalho. Ao fotógrafo Roberto Caleffi por deixar esse trabalho mais bonito com suas belas fotografias.

Aos meus amigos Lorrane Feitoza, André Corado, Aline Gondim, Eduardo Brito, Fernando Robert, John Lennon e Jennifer Dorlanes por ter compartilhado toda essa vida acadêmica e ajudado na execução desse trabalho. Aqui vai um pedacinho de alguns de vocês.

À equipe do laboratório de Ecologia Vegetal pelos momentos compartilhados.

Ao professor Márcio Akira e a Biofábrica pela disponibilidade do espaço, dos reagentes e dos equipamentos. Facilitou e muito a minha vida, Obrigada!

À pesquisadora Vali Pott da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo imenso auxílio nas identificações sempre me atendendo com bastante gentileza.

À professora Carmem Zickel da Universidade Federal Rural de Pernambuco pela disponibilidade de estágio e oportunidade de aprendizado e a todos do LAFLEC, em especial ao Edson Moura-Junior pelos grandes ensinamentos, questionamentos e ajuda na melhoria deste trabalho.

À Aline Lopes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pela procura e aprendizado durante sua vinda a Boa Vista. Obrigada pelos ensinamentos.

Ao Instituto Chico Mendes (ICMBIO) pela possibilidade de entrada nas áreas de conservação e pelo ótimo atendimento para o desenvolvimento da pesquisa. Em especial a Luciana Pacca pela ajuda nas dúvidas e presteza em facilitar as minhas idas.

A toda minha família, em especial aos meus avós, meu pai e minha mãe, minhas tias e meus tios por ter fornecido carinho, amor, compreensão e apoio durante toda esta caminhada. Seus ensinamentos fazem parte da minha vida e norteiam os meus princípios. Ao meu amor Guilherme Locatelli pelo seu imenso carinho e afeto, e a toda sua família pela ajuda, conversas, conselhos e apoio para que esse momento chegasse.

Agradeço a todos que contribuíram para realização deste trabalho e que não me lembrei neste pequeno espaço de tempo. Deixo aqui meus sinceros agradecimentos!!!

Muito obrigada a todos!!!

RESUMO

O estudo dos ambientes aquáticos é fator relevante e imprescindível para possibilitar a sua preservação, assim como o seu manejo. Atualmente, declara-se de forma enfática e autoritária que o futuro da Amazônia será solucionado pela utilização dos recursos genéticos da biodiversidade regional. Vários trabalhos no Brasil e no mundo têm revelado a importância das macrófitas para a conservação dos ecossistemas aquáticos. Em Roraima, embora ocorram na maioria dos ambientes aquáticos extensas áreas cobertas por macrófitas, que desempenham papel central na dinâmica destes ecossistemas, pesquisas sobre esta comunidade, especialmente do ponto de vista botânico e genético, ainda são escassas. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição florística dos ambientes aquáticos nas áreas de estudo do Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio), sendo duas em áreas de savana, uma em área de floresta em contato com campina/campinarana e uma em área de floresta em contato com savana, além de realizar extrações de DNA de várias macrófitas, visando a criação de um banco deste material genético para posteriores estudos de identificações filogenéticas. As coletas para o estudo foram realizadas em igarapés, represas, canais, áreas alagadas e lagos. O material fértil foi coletado, fotografado e processado de acordo com as técnicas usuais de herborização, sendo identificados com auxílio de bibliografia específica e consultas a especialistas da área para posterior incorporação ao herbário da UFRR. Para a extração do DNA foram coletadas folhas jovens dos gêneros de *Eichhornia*, *Ludwigia*, *Montrichardia*, *Nymphaea*, *Nymphaoides* e *Salvinia*, as mesmas foram lavadas e transportadas em isopor contendo gelo até o Laboratório de Biologia Molecular da UFRR onde foram armazenadas em freezer -70°C até a realização das extrações, por volta de quinze dias. O protocolo utilizado foi o CTAB modificado, em seguida realizou-se uma eletroforese em gel de agarose à 0,8% com corante Gel Red para a análise da qualidade do DNA. Uma comparação para determinar o melhor tipo de extração foi realizada através do Kit Nucleon Phytopure. No levantamento florístico foram identificadas 60 espécies, distribuídas em 43 gêneros e 27 famílias. Entre as formas de vida 61,8% são anfíbias, 11,6% submersa fixa, 11,6% flutuante fixa, 10% emergente e 5% outras. O índice de Jaccard apontou que as áreas de savana apresentam entre si 29% de similaridade. A família mais representativa foi Cyperaceae (9), seguida por Lentibulariaceae (5) e Fabaceae (4). Em relação a extração, concluímos que o método CTAB após algumas modificações mostrou-se bastante eficiente para obtenção de DNA em boa quantidade e qualidade.

Palavras-chaves: Amazônia. DNA vegetal. Plantas aquáticas.

ABSTRACT

The study of aquatic environments is important and essential factor to enable their preservation as well as their management. Currently, it is stated emphatically and authoritatively that the Amazon's future will be solved by the genetic resources' use of regional biodiversity. Several studies in Brazil and worldwide have shown the importance of macrophytes to the conservation of aquatic ecosystems. In Roraima, although occur in most aquatic environments extensive areas covered by macrophytes, which play a central role in the dynamics of these ecosystems, research on this community, especially from the standpoint of botany and genetic, are still scarce. The aim of this study was to determine the floristic composition of aquatic environments in the study areas of the Biodiversity Research Program (PPBio), two in savannah, one in a forest area in contact with campina/campinarana and one in forest area in contact with savannah, and perform DNA extractions of several macrophytes, aiming to create a bank of genetic material for further study of phylogenetic identifications. The collections were carried out in streams, reservoirs, canals, wetlands and lakes. The fertile material was collected, photographed and processed according to standard techniques herborization, being identified with the help of literature and consultation with specific experts for subsequent incorporation into the herbarium of UFRR. For DNA extraction were collected young leaves of the genus *Eichhornia*, *Ludwigia*, *Montrichardia*, *Nymphaea*, *Nymphoides* and *Salvinia*, which were washed and transported in a polystyrene box containing ice to the Laboratory of Molecular Biology UFRR, where it was stored in a freezer at -70°C until carrying out the extractions, about fifteen days. The protocol used was a modified CTAB. Then it was carried out a gel electrophoresis on 0.8% Agarose Gel Red blush and for analyzing the quality of DNA. The comparison to determine the best type of extraction was performed using the Nucleon Kit Phytopure. In the floristic survey was identified 60 species in 43 genera and 27 families. Among the forms of life are amphibious 61.8%, 11.6% submerged fixed, 11.6% floating fixed, 10% emerging and 5% others. The Jaccard index indicated that the savannah areas, between them, has 29% similarity. The most representative family was Cyperaceae (9), followed by Lentibulariaceae (5) and Fabaceae (4). For extraction, we conclude that the CTAB method after some modifications proved to be very efficient for obtaining DNA in large quantity and quality.

Keywords: Amazon. plant DNA. aquatic plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mapa do estado de Roraima mostrando as áreas de estudo do PPBio.....	24
Figura 2 -	Áreas de estudo do PPBio e áreas adjacentes onde foram realizadas as amostragens. A: Campo experimental do Água Boa, B: Campus do Cauamé, C: Parque Nacional do Viruá e D: Estação Ecológica de Maracá.....	25
Figura 3 -	Ambientes onde foram coletadas as macrófitas aquáticas.....	27
Figura 4 -	Esquema geral das formas de vida das plantas aquáticas segundo Irgang; Pedralli; Waetcher (1984). 1- Anfíbia, 2- Emergente, 3- Flutuante fixa, 4- Flutuante livre, 5- Submersa fixa, 6- Submersa livre, 7- Epífita.....	28
Figura 5 -	Famílias mais representativas em número de espécies nas áreas do PPBio -RR.....	35
Figura 6 -	Formas biológicas dominantes entre as espécies identificadas nas áreas do PPBio.....	39
Figura 7 -	Quantidade de espécies totais e exclusivas para cada área de coleta.....	42
Figura 8 -	Dendrograma da similaridade florística das macrófitas aquáticas entre as áreas do PPBio, acompanhado do teste de permutação Monte Carlo = 0,29 (com 2.000 replicações, $\alpha = 5\%$).....	44
Figura 9 -	Quantidade de espécies por ambiente de coleta.....	45
Figura 10 -	Amostras de <i>Nymphaea</i> (NV1 à NV4) do PARNA Viruá e amostras de <i>Ludwigia</i> (LC1 – LC2) do lago do Campus do Cauamé sem uso de marcador molecular.....	47
Figura 11 -	Amostras de <i>Nymphaea</i> (NC1 – NC3), <i>Nymphoide</i> (NyC1 – NyC3) e <i>Eichhornia</i> (EC1 – EC3) do lago do Campus do Cauamé.....	48
Figura 12 -	Amostras de <i>Montrichardia</i> (MA1 – MA2) congeladas a -80°C da represa do Campo experimental do Água Boa. MS1 e MS2 foram desidratadas com sílica e congeladas a -80°C.....	48
Figura 13 -	Amostras de <i>Nymphaea</i> (NM1 – NM4) e de <i>Salvinia</i> (SM1 – SM4) da Estação Ecológica de Maracá.....	48
Figura 14 -	L (Ladder) - marcador de peso molecular (NEW ENGLAND- BioLabs)...	49
Figura 15 -	Amostras de <i>Nymphaea</i> do lago do Cauamé extraídas através do CTAB com adição de Proreinase K.....	50

Figura 16 -	Amostras de <i>Nymphaea</i> do lago do Cauamé extraídas através do Kit Nucleon Phytopure.....	51
Figura 17 -	Banco de DNA das macrófitas aquáticas armazenado em freezer a -70°C.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Sinopse das espécies encontradas nas áreas de estudo do PPBio - RR e áreas adjacentes.....	32
Tabela 2 -	Famílias com menor número de espécies encontradas nas áreas de estudo.....	36
Tabela 3 -	Espécies de macrófitas encontradas nas áreas do PPBio – RR e áreas adjacentes com suas respectivas formas biológicas.....	38
Tabela 4 -	Listagem das espécies de macrófitas coletadas nas áreas do PPBio e áreas adjacentes com suas respectivas distribuições.....	40
Tabela 5 -	Gênero de plantas que tiveram seu DNA extraído e seu local de origem.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Ecossistemas aquáticos em Roraima.....	14
1.2 Macrófitas aquáticas.....	17
1.3 Extração de DNA das plantas aquáticas.....	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivo específico.....	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Área de estudo.....	23
3.2 Localização e frequência das amostragens.....	25
3.3 Metodologia de coleta e análise do material botânico.....	26
3.4 Metodologia de coleta para extração do DNA.....	29
3.4.1 Protocolo CTAB	29
3.4.2 “Kit” Nucleon Phytopure (Amersham/Life Science)	30
3.5 Análise das amostras de DNA.....	30
3.5.1 Eletroforese	30
3.5.2 Espectrofotometria	30
3.6 Organização das amostras de DNA.....	31
3.7 Análise dos dados florísticos.....	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
4.1 Levantamento florístico.....	32
4.1.1 Macrófitas X Locais de coleta	40

4.2 Extração de DNA.....	47
5 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	53
6 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
APÊNDICE.....	62
ANEXOS.....	72

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem a flora mais rica do mundo, com mais de 56.000 espécies de plantas – quase 19% da flora mundial (LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL, 2012). Muito dos estudos relacionados ao levantamento dessa grande diversidade têm como enfoque principal as plantas de ambientes terrestres sendo poucos os trabalhos florísticos sobre macrófitas aquáticas em todo o Brasil, principalmente na Região Norte.

O bioma amazônico é caracterizado por apresentar o maior sistema fluvial da Terra, constituído por um imenso número de rios, igarapés, cachoeiras e lagos. No que diz respeito ao estado de Roraima, este apresenta uma bacia hidrográfica com uma grande variedade de sistemas aquáticos continentais que se distinguem uns dos outros por apresentarem características físicas, químicas e biológicas bastante peculiares. Toda essa diversidade faz da região um ambiente com grande potencial para o desenvolvimento e aprofundamento dos estudos limnológicos (SILVA, 2008), sendo um fator relevante e imprescindível para possibilitar a sua preservação, assim como o seu manejo (BOVE et al., 2003).

1.1 Ecossistemas aquáticos em Roraima

O estado de Roraima está situado no extremo setentrional do Brasil, possuindo uma área de 224.131,3 Km², isto lhe confere a peculiaridade de possuir a maior parte de suas terras no Hemisfério Norte. No estado a temperatura oscila entre 23,5 °C e 31,9 °C, enquanto os índices pluviométricos variam em média de 1200 a 2200 milímetros anuais (BRASIL, 1975).

A maior parte da superfície do Estado é drenada pela bacia do Rio Branco e seus afluentes numa rede hidrográfica que atinge 1.993.328 km de extensão. O Rio Branco, com cerca de 580 km de extensão, é formado pelos rios Uraricoera e Tacutu, e constitui-se no principal curso de água do Estado. O regime hidrológico da bacia do Rio Branco é definido por um período de cheia (março a setembro) e um período de estiagem (outubro a fevereiro). Na estação de estiagem ocorre baixa no volume de água dos rios (SANTOS; SILVA, 1985; JUNIOR, 1994).

Segundo Sioli (1990) as águas da Amazônia são divididas em três grandes grupos: águas brancas, águas pretas e águas claras.

As águas brancas são típicas dos rios Solimões, Amazonas, Madeira, Purus entre outros, possuem elevada carga de sedimentos o que provoca a cor branca da água. São ricos

em sais dissolvidos provenientes dos Andes e da erosão dos sedimentos encontrados ao longo das bacias de drenagem (JUNK, 1983; SIOLI, 1990).

As águas pretas, cujo principal representante é o rio Negro, não transportam material em suspensão em grande quantidade. Nascem das drenagens dos escudos das Guianas e Brasileiro. Sua cor é resultado de substâncias fúlvicas e húmicas dissolvidas, apresenta baixo nível de sedimentos, pH ácido e é pobre em sais minerais, resultando em níveis extremamente baixos de nutrientes (JUNK, 1983).

As águas claras (rios Tapajós e Xingu) são oriundas da Amazônia Central, que em virtude do relevo mais regular, oferece menor taxa de erosão. São transparentes e possuem cor esverdeada, apresentam características químicas de transição entre os dois tipos anteriores e o pH varia entre 4,5 e 7,0 (JUNK, 1983; SIOLI, 1990).

No município de Boa Vista, a água dos ecossistemas aquáticos encontrados são transparentes e pobres em sais minerais, sendo quase totalmente provenientes de chuvas, onde a ocorrência de macrófitas e de outros vegetais, tais como: fitoplâncton e perifíton são muito reduzidas devido à pequena quantidade de nutrientes (JUNK, 1970). O mesmo não é observado nos rios e igarapés, onde há grande quantidade destes vegetais, principalmente os pertencentes à família Araceae sendo inclusive a vegetação do entorno muitas vezes retirada para facilitar a entrada dos moradores.

O Estado pode ser dividido em três grandes sistemas ecológicos: florestas, campinas-campinaranas e savanas ou cerrados (BARBOSA; MIRANDA, 2005). Dentre estes ecossistemas, encontram-se as áreas alagáveis que são caracterizadas pela presença de água, saturando os sedimentos e criando condições de solos encharcados, permitindo apenas o desenvolvimento de espécies vegetais adaptadas a essas condições, e assim contribuindo para a diversidade biológica (IBAMA, 2008 apud HEFLER et al., 2009).

A campina amazônica é definida por uma vegetação de porte baixo e aberta podendo ocorrer ou não nas proximidades de rios. O ecótono entre campina e floresta é denominado campinarana, onde o dossel é mais fechado que na campina. As campinas/campinaranas florescem em um ambiente inóspito e seletivo onde a pressão ecológica é intensa, e a drenagem ocorre rapidamente levando os nutrientes do solo. Devido a tais condições, a vegetação tende a desenvolver mecanismos adaptativos, que são claramente visíveis em seu

aspecto fisionômico, apresentando biomassa reduzida e baixa diversidade (ANDERSON; PRANCE; ALBUQUERQUE, 1975).

As florestas em áreas inundáveis representam de 5 a 10% da bacia amazônica. Estão geralmente situadas nas áreas ao longo dos grandes rios, em faixas cujas larguras variam consideravelmente (PIRES, 1974). No Brasil, os dois tipos mais comuns são chamados de várzea e igapó. As florestas de várzea são aquelas periodicamente inundadas por rios de água branca enquanto aquelas que são inundadas por rios de água “preta” ou “clara” são denominadas de igapó (IRMLER, 1977 apud FERREIRA; ALMEIDA; SILVA, 2011; SIOLI, 1990).

As várzeas são altamente produtivas e chamam a atenção pela fertilidade de seus solos e pela predominância de macrófitas aquáticas. Já os igapós possuem solos pobres em nutrientes e águas ácidas e são caracterizados pela baixa biomassa de plantas (PRANCE, 1979; JUNK, 1983).

Segundo Barbosa et al. (2007), os autores Sarmiento (1984), Eiten (1986) e Huber (1987) definem savanas como fitofisionomias dos trópicos caracterizadas por possuir uma vegetação aberta, dominada pelo estrato herbáceo (ervas e capins), onde as árvores e os arbustos podem ou não estar presentes sob diferentes densidades. O maior bloco contínuo de savanas do extremo norte da Amazônia brasileira está situado no estado de Roraima, onde são denominados de “*campos do rio Branco*” ou “*lavrado*”. Nesses ambientes existem redes de drenagem baseadas em interconexões denominadas de “veredas” de buritizais (*Mauritia flexuosa* L.) que nada mais são do que córregos que ligam os lagos aos rios de maior fluxo de água.

O *lavrado* ainda apresenta um sistema de lagoas perenes ou estacionais relacionadas a redes de drenagens jovens e pouco desenvolvidas. Essas regiões se destacam para a conservação tanto pela importância hidrológica quanto pela fauna e flora associada. As lagoas estão diretamente relacionadas à recarga dos aquíferos e podem ou não estar interligadas entre si, ou com igarapés e buritizais. Essas lagoas possuem alta diversidade de espécies quando analisadas em conjunto (BARBOSA et al., 2007), tendo sido registradas por Carranza (2006) 90 espécies de plantas aquáticas ao estudar quatro dessas lagoas.

Além dos lagos, os “igarapés do cerrado” contêm frequentemente uma flora submersa abundante, recebendo grande quantidade de luz, pois são pouco sombreados. Essas plantas são capazes de existir com baixíssimas concentrações de nutrientes (JUNK, 1983).

Diante disso, estudos ecológicos sempre evidenciaram a importante contribuição da comunidade de macrófitas para o metabolismo dos ecossistemas, porém essas plantas foram, durante muitos anos, consideradas pouco importantes para tal (ESTEVES, 1998; POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2003).

1.2 Macrófitas aquáticas

Warner; Clementes (1938 apud ESTEVES, 1998) propuseram o termo macrófitas aquáticas, o qual definiu amplamente como plantas herbáceas que crescem na água, em solos cobertos por água ou solos saturados com água. Segundo Cook (1996), “macrófitas aquáticas” são vegetais cujas partes fotossinteticamente ativas, estão permanentemente ou por alguns meses submersas ou flutuantes em água e são visíveis a olho nu.

Entretanto, para o International Biology Programme (IBP), macrófita aquática é a denominação mais adequada para caracterizar plantas que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos. Desta forma, incluem-se vegetais que variam desde macroalgas, como o gênero *Chara*, até angiospermas, como o gênero *Typha*, capazes de colonizar diversos ambientes, de salobros ou salgados, passando por rios, lagos, brejos e corredeiras até fontes termais (ESTEVES, 1998; SCREMIN-DIAS, 1999).

Nogueira e Couto (2004) relatam que as adaptações morfológicas, anatômicas, fisiológicas, fenológicas e etológicas desse grupo de plantas são respostas às mudanças físico-químicas resultantes das oscilações entre as fases terrestre e aquática. Entre as principais modificações anatômicas que permitiram este restabelecimento no meio aquático, estão a redução do sistema de sustentação, ausência ou presença de estômatos não funcionais, cloroplastos que passaram a se localizar na parte superior das folhas, redução do grau de lignificação dos elementos condutores do xilema, cutículas que se tornaram mais finas para facilitar a troca de gases com o meio e o desenvolvimento de lacunas aeríferas, com a função de transportar gases por toda a planta, oferecer resistência mecânica para as partes submersas, além de permitir a flutuação (ESTEVES, 1998; SCREMIN-DIAS, 1999; POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2003).

Segundo Esteves e Camargo (1986) pesquisas como as de Howard-Williams; Junk (1977); Barbieri et al. (1984) realizadas nas regiões tropicais, sobre a composição química e o processo de decomposição das macrófitas, evidenciaram o seu importante papel no metabolismo dos ecossistemas aquáticos, podendo tornar-se as principais controladoras da dinâmica de nutrientes nestes locais, motivo pelo qual passaram a receber maior atenção por parte dos cientistas de todo o mundo (ESTEVES, 1998).

As macrófitas respondem de forma rápida a gradientes ambientais, sendo adequadas para mapear a variabilidade encontrada em ambientes distintos. No entanto, devido às suas características fisiológicas e sensibilidade a variações no ambiente, podem ter o seu estabelecimento e crescimento determinados por concentração de nutrientes e pH das águas (TREVELIN et al., 2007).

Possuindo uma ampla faixa de tolerância à temperatura, estes vegetais podem ocorrer em abundância nas regiões de clima tropical e temperado, podendo estar submetidas a temperaturas que variam de próximo a zero à 60°C, embora temperaturas elevadas favoreçam o seu desenvolvimento, cada espécie apresenta um ótimo de temperatura. Em condições próximas do limite de tolerância, esses vegetais podem realizar os processos fotossintéticos apenas o suficiente para sua sobrevivência. As variáveis ambientais podem influenciar em conjunto ou isoladamente as características fotossintéticas do vegetal, tanto sazonalmente quanto diariamente. Por outro lado, se as características ambientais são favoráveis, pode ocorrer um acréscimo da produtividade e um conseqüente aumento da reprodução vegetativa e sexuada (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2000; CAMARGO; PEZZATO; HENRY-SILVA, 2003).

Entre as ações e funções desempenhadas por macrófitas nos ambientes aquáticos incluem-se: a estabilização de sedimentos, produção primária e de detritos, a absorção, a acumulação e liberação de nutrientes; a interferência com o fitoplâncton e com outras espécies de macrófitas através do sombreamento e competição por nutrientes; diversificação de habitat, substrato para perifíton, refúgio e nidificação para animais aquáticos e terrestres, fonte de alimentos para peixes, aves e mamíferos (BEYRUTH, 1992), sendo inclusive agentes de regeneração da água (BOVE et al., 2003).

Segundo Pandit (1984), as macrófitas de água doce têm uma maior influência sobre a parte física e química do ambiente do que as plantas terrestres. Quando atingem alta densidade causam redução no teor de oxigênio dissolvido na água, em decorrência do

aumento de matéria orgânica em decomposição, onde atuam microorganismos decompositores que consomem grande quantidade de oxigênio. A redução de oxigênio dissolvido impede a sobrevivência de organismos aeróbios causando a mortandade de peixes e outros organismos aquáticos. Na decomposição anaeróbia há produção de gases como sulfídrico e metano, o que causa odor e sabor à água (BEYRUTH, 1992).

Em ambientes nativos, problemas relacionados à infestação por macrófitas aquáticas são mais escassos que em regiões impactadas, o que se deve a fatores naturais que exercem controle sobre um desenvolvimento explosivo dessas populações, dentre eles: competição entre espécies, presença de insetos fitófagos e outros inimigos naturais, períodos de enchentes e alternância do regime hidrológico (MITCHELL, 1971).

Em relação a sua distribuição nos corpos d'água, as plantas aquáticas apresentam algumas formas biológicas, as quais incluem submersas fixas ou livres, flutuantes fixas ou livres, emergentes, anfíbias ou epífitas (IRGANG; PEDRALLI; WAETCHER, 1984). Tornando-se fundamental a correta observação dessas plantas no ambiente e o conhecimento da morfologia vegetal para o sucesso na identificação científica.

Atualmente, declara-se de forma enfática e autoritária que o futuro da Amazônia será solucionado pela utilização dos recursos genéticos, da biodiversidade regional; porém, a maioria das pessoas que fazem essas afirmativas não se dá conta de que os herbários amazônicos armazenam um número bastante significativo de amostras dos recursos genéticos vegetais da região, altamente importante no processo de planejamento de utilização, capazes de promover a identificação das espécies e fornecer informações relevantes, como as áreas de ocorrência dessas espécies, suas características morfológicas vegetativas e reprodutivas, bem como seus usos (MARTINS - DA - SILVA, 2002).

1.3 Extração de DNA das plantas aquáticas

A preservação da diversidade genética é fundamental em programas de conservação, aumentando a adaptação das populações às alterações ambientais e contribuindo para a manutenção das populações em longo prazo (ROSSETTO; WEAVER; DIXON, 1995).

Nos últimos anos, uma série de publicações tem ressaltado a importância do uso de estratégias alternativas de preservação da biodiversidade (CHAPIM et al., 2000). Dentre estas estratégias se encontram os herbários que são valiosos bancos de dados que armazenam ampla

informação sobre a diversidade de plantas de uma determinada região servindo como meio de comprovação científica de sua existência (LIMA et al., 2009). Além da importância para a taxonomia, mais recentemente os herbários passaram a ser reconhecidos como instrumentos essenciais para pesquisas genéticas, em que as exsiccatas documentam a variabilidade amostrada (UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL, 2011).

Aliado a essa coleção científica temos os bancos de DNA que visam propiciar estudos genéticos para as mais distintas finalidades. Estes estudos lidam basicamente com a biodiversidade em seu aspecto mais fundamental que se dá ao nível molecular ou de diversidade genética (SANTOS; GUIMARÃES; REDONDO, 2002).

O armazenamento do material genético tem um potencial em longo prazo, por exemplo, para bioprospecção de genes de interesse biotecnológico, médico ou farmacêutico e ganham importância também para o fornecimento de subsídios para conservação de espécies sem interesse econômico direto, ao mesmo tempo em que serve como ferramenta auxiliar para implementação de bancos de germoplasma (BERG, 2005).

O Jardim Botânico do Rio de Janeiro é considerado um centro de referência na proteção de espécies brasileiras e em pesquisas na área de botânica. Em parceria com a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), desenvolveu o Banco de DNA de Espécies da Flora Brasileira, o primeiro da América Latina. O objetivo é conservar e estudar as espécies nativas da flora brasileira, dando maior ênfase às espécies raras ou ameaçadas de extinção (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2011).

De acordo com o CGEN (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético) cadastrados como fiéis depositários para Região Norte temos o banco de DNA da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) da Amazônia Oriental, o Herbário do INPA (Instituto de Pesquisas da Amazônia) e o Museu Paraense Emílio Goeldi.

O primeiro passo para a criação de um banco de DNA é a sua extração. Vários trabalhos (MAZZA; BITTENCOURT, 2000; SILVA et al., 2003; ROSO; VIDAL, 2010) debatem a metodologia de coleta, tratamento, conservação de amostras de plantas para estudos moleculares, sendo naturalmente a obtenção de DNA de boa qualidade um passo fundamental para o sucesso desses estudos (FERES et al., 2005). Sendo assim, a diversidade de protocolos reflete a variabilidade da composição bioquímica que pode ser encontrada em diferentes plantas e tecidos (ROMANO, 1998).

O método para extração mais utilizado com sucesso para diferentes espécies é o baseado no uso do detergente CTAB (Brometo de Cetil-Trimetil-Amônio). Esse detergente solubiliza as membranas, formando com o DNA um complexo que facilita uma posterior precipitação (WEISING et al., 1995).

Diante disso, o estado de Roraima ainda não possui coleções genéticas da biodiversidade e hoje em dia os bancos de DNA podem ser considerados coleções estratégicas para o seu estudo, sendo sua implementação, extremamente importante para a moderna ciência da conservação. A possibilidade de manejo e recuperação de espécies em vias de extinção ou, até mesmo extintas, aumenta ainda mais a importância da criação destes acervos genômicos. As aplicações do conhecimento da biodiversidade genética já estão presentes na pesquisa biotecnológica, nos estudos evolutivos, comparativos, taxonômicos e ecológicos, e atestam o tremendo potencial de uso científico e tecnológico dessas coleções genômicas (SANTOS; GUIMARÃES; REDONDO, 2002).

Sendo assim, conhecendo a diversidade das macrófitas que ocorrem nas grades do PPBio no estado de Roraima, principalmente no que diz respeito ao conhecimento, conservação e uso racional da diversidade de plantas aquáticas e associando isso a implantação de um Banco de DNA destes vegetais, este trabalho se torna de grande importância para posteriores estudos de identificações filogenéticas, subsidiando conhecimentos para futuros projetos em ecologia, genética e biologia molecular que demandam o conhecimento prévio fundamental da composição da flora aquática.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Conhecer a diversidade das macrófitas que ocorrem nas grades do PPBio e definir um protocolo para extração de DNA destes vegetais visando a implantação de um Banco de DNA.

2.2 Objetivos específicos

- (1) Coletar e identificar as espécies de macrófitas que ocorrem nas quatro grades do PPBio;
- (2) Analisar a composição florística e a estrutura das comunidades de macrófitas aquáticas;
- (3) Adequar um protocolo para extração de DNA de macrófitas aquáticas;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os locais selecionados para desenvolver a pesquisa foram as áreas de estudo do PPBio e áreas adjacentes localizadas no Estado de Roraima e compostas por lagos, igarapés, represa, canais e áreas alagadas.

3.1 Área de estudo

O Núcleo do PPBio em Roraima foi instalado em 2004 e dentro das discussões preliminares que envolveram todos os parceiros, alguns modelos de montagem e localização das grades foram sendo desenvolvidos e aprimoradas no sentido de possibilitar amostragens nos grandes ecossistemas do Estado: florestas, savanas e campinas/campinaranas. Sendo assim, foram instalados, entre 2005-2007, dois módulos em savanas (modificados do desenho básico do PPBio) e duas grades completas (seguindo o desenho experimental padrão do PPBio) sendo uma em floresta de contato com as savanas (Estação Ecológica de Maracá) e a outra em floresta de contato com as campinas/campinaranas (Parque Nacional do Viruá) (BARBOSA; VITAL; CASTILHO, 2009).

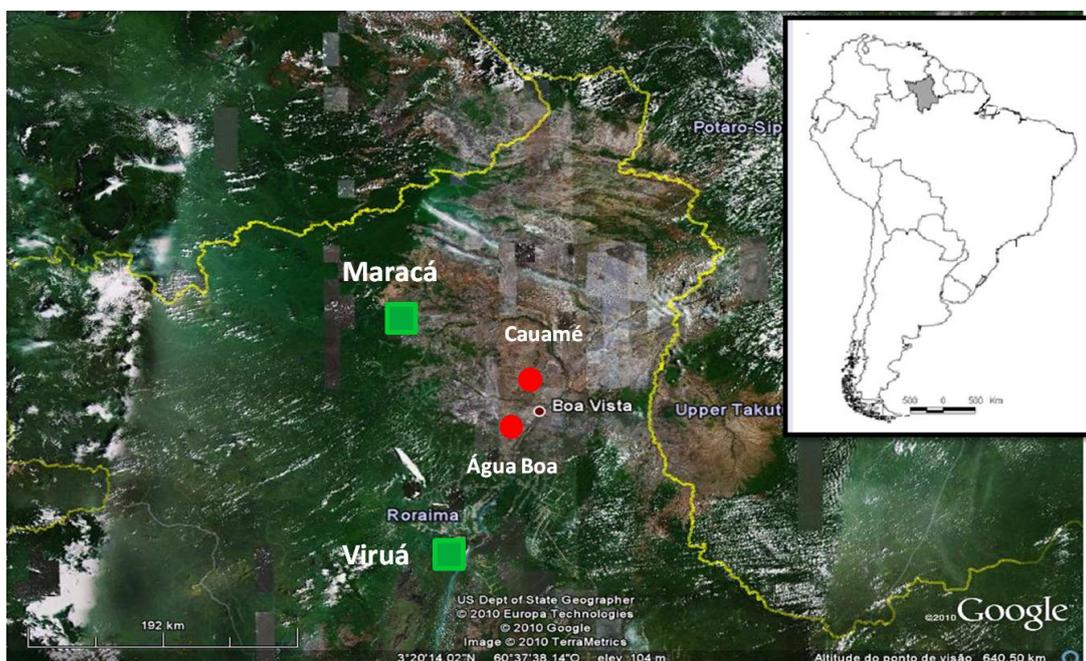
O estudo então foi realizado nos módulos localizadas no Campus do Cauamé e Campo Experimental do Água Boa e nas grades no Parque Nacional do Viruá e na Estação Ecológica de Maracá (Fig. 1).

As grades são áreas de 25 km² onde foram instaladas 12 trilhas de 5 km de comprimento, 6 no sentido norte-sul e 6 no sentido leste-oeste. São constituídas por 30 parcelas permanentes de 250 m que não são quadradas ou retangulares como em geral se usa em inventários. Ao contrário, elas levam em consideração o fato de que o relevo é um fator determinante na composição da vegetação, e por isso seguem curvas de nível. Possui um número variável de parcelas aquáticas permanentes a montante dos pontos em que as trilhas atravessem os riachos ou outros corpos d'água (BRASIL, 2005).

O Campus do Cauamé da UFRR situado a 20 km ao Norte de Boa Vista tem uma área útil de 498 ha de savanas entrecortadas por dois pequenos cursos d'água, com a presença de um grande lago e um banhado próximo ao rio Cauamé. O Campo Experimental do Água Boa (Embrapa Roraima), situado a 35 km ao Sul de Boa Vista, tem uma área de instalação das parcelas abrangendo 616 ha sendo caracterizada, principalmente, por um grande banhado

formado por dois lagos e pequenas baixadas úmidas que formam um igarapé de primeira ordem (represado) associado a um buritizal (BARBOSA; VITAL; CASTILHO, 2009).

Figura 1 - Mapa do estado de Roraima mostrando as áreas de estudo do PPBio.



Fonte: Reinaldo Imbrozio

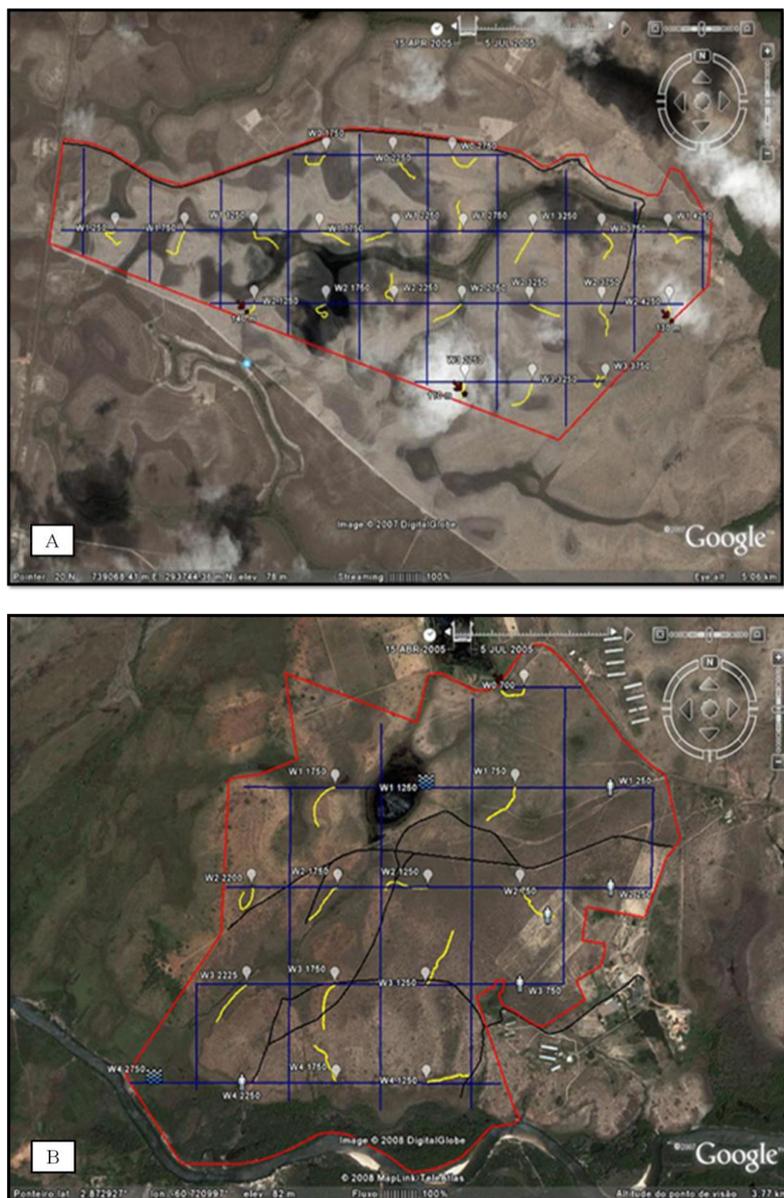
O Parque Nacional do Viruá, assim denominado em decorrência da nascente do igarapé Viruá, tem mais de 227.000 ha e está localizado no município de Caracaraí. Na parte Sul, a área compreende uma vasta superfície praticamente plana, com predomínio de solos arenosos e mal drenados, com grande quantidade de lagoas. Na sua parte Norte, ocorrem morros residuais com altitudes modestas. Ao longo da extensão oeste, delimitada pelo Rio Branco, há ocorrência de planícies aluvionares inundáveis, situação observada também na porção sul, ao longo do Rio Anauá (BARBOSA; VITAL; CASTILHO, 2009).

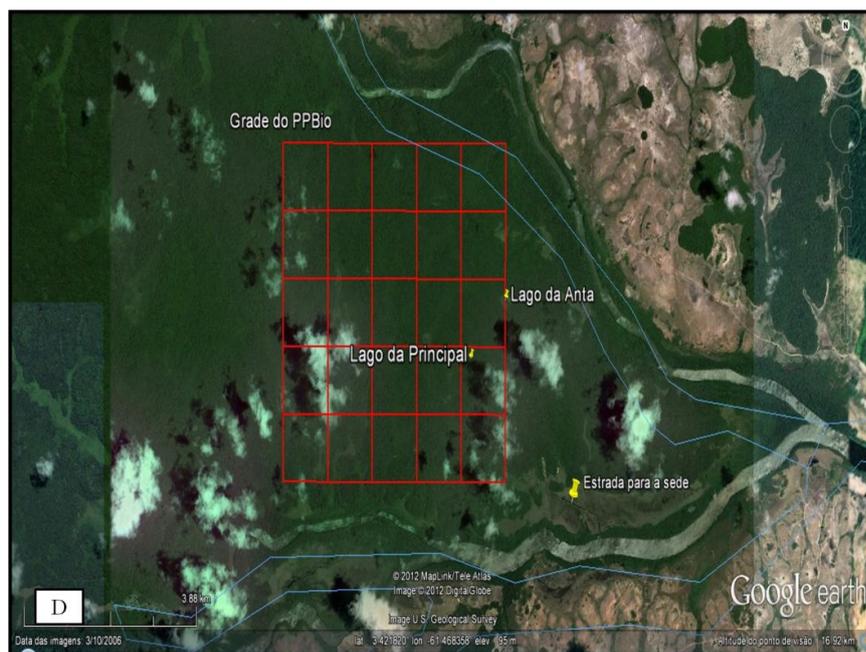
A Estação Ecológica de Maracá (RR) abrange 103.976,48 ha e foi criada em 1981 com o objetivo de preservar uma amostra representativa do ecossistema Amazônico, tendo como foco zonas de ecótono, sendo uma das áreas do estado de Roraima mais bem estudada. A Ilha de Maracá está localizada no Rio Uraricoera, formador do Rio Branco. A grade do PPBio na Ilha está localizada próxima à sede administrativa e possui lagos temporários e permanentes e igarapés que desembocam nos furos Maracá e Santa Rosa (BARBOSA; VITAL; CASTILHO, 2009).

3.2 Localização e frequência das amostragens

As coletas foram realizadas de julho de 2011 a abril de 2012 com intervalos de dois meses entre cada amostragem em ambientes aquáticos presentes nos módulos e nas grades do PPBio e em algumas áreas no entorno destes locais buscando uma melhor representatividade de macrófitas aquáticas (Fig. 2). Todos os locais de amostragem tiveram suas coordenadas determinadas no sistema Universal Transverso de Mercator (UTM) com emprego do Global Positioning System (GPS), para permitir sua localização exata em mapa e georreferenciar os dados obtidos.

Figura 2 – Áreas de estudo do PPBio e áreas adjacentes onde foram realizadas as amostragens. A: Campo experimental do Água Boa, B: Campus do Cauamé, C: Parque Nacional do Viruá e D: Estação Ecológica de Maracá.





Fonte: Google Earth

3.3 Metodologia de coleta e análise do material botânico

As coletas para o levantamento florístico foram realizadas sem determinação de área específica sendo feita a amostragem em toda extensão dos ambientes (igarapés, canais, áreas alagadas, represas e lagos) (Fig. 3), buscando coletar o maior número de espécies possíveis de acordo com o Protocolo 13 – Ervas e Epífitas, do PPBio da Amazônia Oriental por não existir um protocolo específico para macrófitas aquáticas no PPBio da Amazônia Ocidental.

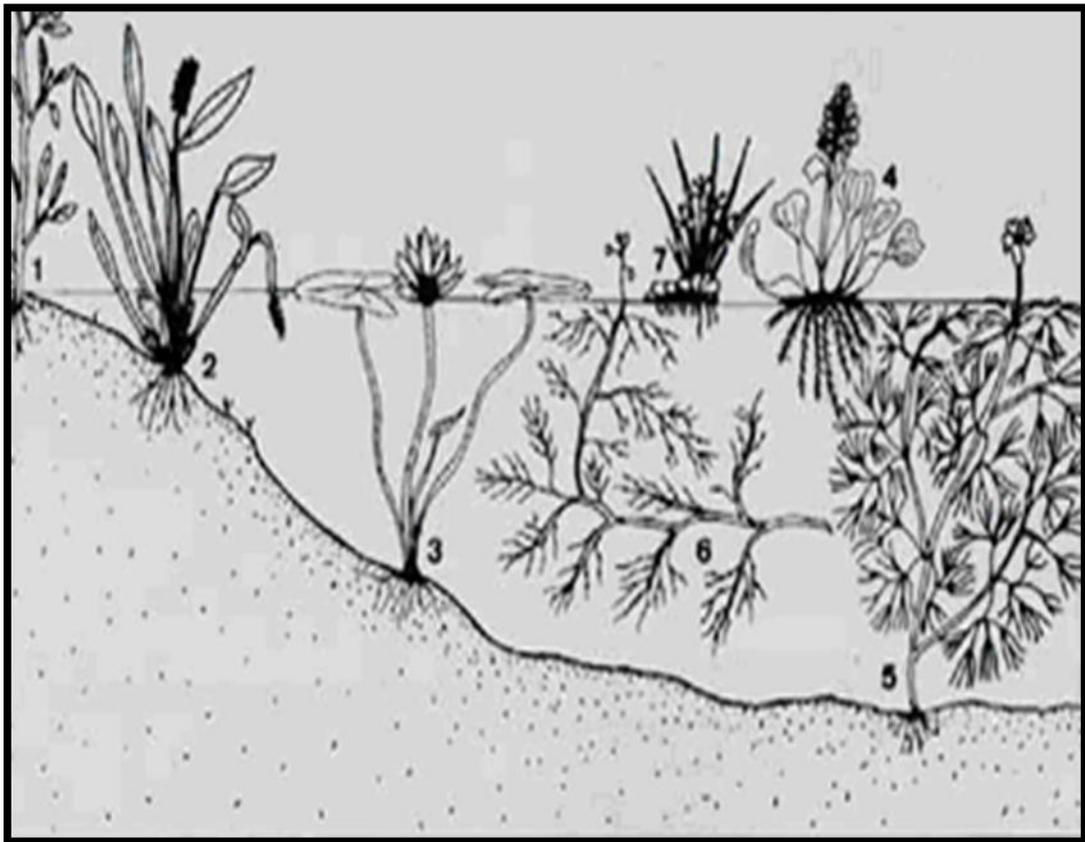
Figura 3 - Ambientes onde foram coletadas as macrófitas aquáticas.



As macrófitas foram coletadas com auxílio de tesoura de poda e herborizadas segundo a metodologia tradicional utilizada para plantas terrestres (ROTTA; BELTRAMI; ZONTA, 2008) sendo incorporadas ao acervo do Herbário - UFRR.

Para a identificação das espécies, além de consulta a literatura específica como Pott e Pott (2000), Amaral et al. (2008), Lorenzi (2008), Bove e Paz (2009) e Lima et al. (2011), foram feitas comparações com as espécies já identificadas na coleção do herbário da UFRR e solicitado o auxílio de diversos especialistas. O sistema de classificação taxonômica adotado foi o Angiosperm Phylogeny Group III (APG III, 2009). As formas biológicas foram analisadas segundo Irgang; Pedralli; Waetcher (1984) que classifica os grupos como flutuante fixa, flutuante livre, submersa livre, submersa fixa, emergente, anfíbia e epífita (Fig. 4).

Figura 4 - Esquema geral das formas de vida das plantas aquáticas segundo Irgang; Pedralli; Waetcher (1984). 1- Anfíbia, 2- Emergente, 3- Flutuante fixa, 4- Flutuante livre, 5- Submersa fixa, 6- Submersa livre, 7- Epífita.



Fonte: Esteves (1998)

3.4 Metodologia de coleta para extração do DNA

Para extração de DNA foram selecionadas macrófitas que também fizeram parte do levantamento florístico e haviam sido previamente identificadas. Essas plantas aquáticas foram coletadas sempre procurando utilizar as partes mais jovens. As amostras foram lavadas por mais de 3 vezes em água destilada ainda em campo, e armazenadas em sacos plásticos individuais com fecho hermético, as mesmas foram transportadas em caixa de isopor com gelo e congeladas a -70°C no laboratório de Biologia Molecular (LaBMOL) do Centro de Estudos da Biodiversidade (CBIO - UFRR) até o momento da realização das extrações. A extração foi realizada através de duas metodologias: seguindo o protocolo CTBA (ROMANO; BRASILEIRO, 1999) (modificado) em colaboração com a Biofábrica (Centro de Ciências Agrárias – UFRR) e pelo “Kit” Nucleon Phytopure (Amersham/Life Science) (modificado), para comparação da qualidade das amostras produzidas pelas duas metodologias.

3.4.1 Protocolo CTAB

De acordo com o protocolo utilizou-se aproximadamente 0,3 g de tecido foliar ainda congelado. Posteriormente macerou-se em um almofariz também congelado, até obter um pó fino onde foi adicionado 3 ml do tampão CTAB acrescido de β -mercaptoetanol sendo pré-aquecido a 65°C , até a homogeneização por completo. Despejou-se o homogeneizado em microtubos e incubou-se a 65°C durante 30 minutos, agitando levemente por inversão a cada 10 minutos. Adicionou-se 2,5 μl de Proteinase K e incubou-se a 55°C over night. Em seguida, adicionou-se 1 volume de clorofórmio: álcoolisoamílico e agitou-se o tubo por inversão suavemente por 10 minutos. Centrifugou-se por 10 minutos a 5000g. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, onde adicionou-se 2 μl de RNase e incubou-se por 30 minutos em banho-maria a 37°C . Para a precipitação utilizou-se 0,6 volume de isopropanol gelado, misturando suavemente por inversão do tubo, onde foi observado a formação de um precipitado. Centrifugou-se a amostra por 20 minutos a 10000g e descartou-se o sobrenadante. Lavou-se o precipitado com aproximadamente 1 ml de etanol 70% gelado. Centrifugou-se por 3 minutos a 10000g. O precipitado foi mantido em tudo invertido sobre o papel toalha até a secagem do mesmo. Diluiu-se o precipitado em 50 μl de água deionizada e autoclavada e foi armazenado a -70°C para formação do Banco de DNA.

3.4.2 “Kit” Nucleon Phytopure (Amersham/Life Science)

Para a extração com kit as amostras que haviam sido congeladas a -70°C foram maceradas em almofariz previamente congelado. Continuou-se a mesma de acordo com o protocolo do “Kit” Nucleon Phytopure (Amersham/Life Science) (Anexo A). Ao final, diluiu-se o precipitado em 50 μl de água deionizada e autoclavada sendo armazenado a -70°C .

3.5 Análise das amostras de DNA

As amostras foram analisadas através de eletroforese e espectrofotometria com a finalidade de comprovar a sua qualidade.

3.5.1 Eletroforese

Preparou-se um gel de agarose a 0,8%. Pesou-se 0,8 g de agarose que foram dissolvidos em 100 ml de TBE 0,5X em um erlenmeyer e aquecido no microondas até a agarose fundir-se por completo. Deixou-se esfriar até a temperatura ambiente e verteu-se numa forma de gel com o pente posicionado. Encheu-se a cuba de eletroforese com tampão TBE 0,5X até cobrir o gel. Misturou-se 6 μl de amostra com 2 μl de tampão de corrida (Azul de Bromofenol:Glicose - 0,1X) e 2 μl de Gel Red (10000X). Aplicou-se nos poços o marcador molecular (1,5 μl) e as amostras de DNA já misturadas com o tampão e com o Gel Red. Submeteu-se as amostras a uma corrida eletroforética com intensidade de 120 volts por 45 minutos. A observação das amostras foram feitas através de um fotodocumentador com excitação por luz ultravioleta para visualização e registro fotográfico das mesmas.

3.5.2 Espectrofotometria

Das amostras armazenadas foram retiradas uma alíquota de 1 μl de cada amostra e diluído em 499 μl de Tris-HCL, pH 8,0 resultando numa diluição de 1:500. Cada microtubo recebeu a mesma identificação da amostra. Um microtubo foi separado com 500 μl de Tris-HCL, pH 8,0 para ser utilizado como branco. Realizamos a leitura das amostras em 260 nm e 280 nm. A razão entre a $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ foi calculada para determinação do grau de pureza.

3.6 Organização das amostras de DNA

As amostras de DNA foram armazenadas em microtubos e devidamente identificadas com etiquetas contendo informações como: local de coleta, nome científico, data e metodologia utilizada para extração. Os dados foram organizados através do programa Microsoft excel 1997-2003. Todas as amostras tiveram sua qualidade analisadas através de gel de agarose a 0,8% logo após a extração e foram quantificadas por espectrofotometria em tempo posterior, para garantir a qualidade do armazenamento das amostras no Banco de DNA necessária para posteriores estudos moleculares.

3.7 Análise dos dados florísticos

O banco de dados florístico foi organizado através do programa Microsoft excel 1997-2003 e expresso por meio de estatística descritiva.

A análise de agrupamento foi empregada na avaliação da similaridade entre as comunidades de plantas aquáticas das grades do PPBio estudadas. A matriz de diversidade para cada área de coleta foi estimada pelo índice de Jaccard (MAGURRAN, 2004) através do software PRIMER 6. Para testar a consistência dos agrupamentos foi utilizado o método de permutação Monte Carlo com 2000 replicações e $\alpha = 5\%$, através do programa RANDMAT versão 1.0 (MANLY, 1997).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Levantamento florístico

O levantamento florístico resultou em 60 espécies, 43 gêneros e 27 famílias (Tab. 1).

Tabela 2 - Sinopse das espécies encontradas nas áreas de estudo do PPBio - RR e áreas adjacentes

Divisão	Família	Espécie
Pteridophyta	Salviniaceae	<i>Salvinia auriculata</i> Aubl.
	<hr/>	
Magnoliophyta	Alismataceae	<i>Echinodorus tenellus</i> (Mart. ex Schult. & Schult. f.) Buchenau <i>Sagittaria guayanensis</i> Kunth <i>Sagittaria rhombifolia</i> Cham.
	Araceae	<i>Montrichardia arborescens</i> (L.) Schott <i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott
	Burmanniaceae	<i>Burmannia bicolor</i> Mart.
	Cabombaceae	<i>Cabomba aquatica</i> Aubl. <i>Cabomba furcata</i> Schult. & Schult. f.
	Convolvulaceae	<i>Aniseia martinicensis</i> (Jacq.) Choisy <i>Ipomoea asarifolia</i> (Desr.) Roem. & Schult.
	Cyperaceae	<i>Cyperus haspan</i> L.
		<i>Eleocharis interstincta</i> (Vahl) Roem. & Schult.
		<i>Eleocharis minima</i> Kunth
		<i>Fuirena umbellata</i> Rottb.
		<i>Lipocarpha salzmanniana</i> Steud.
		<i>Oxycaryum cubense</i> (Poepp. & Kunth) Palla
	Eriocaulaceae	<i>Rhynchospora barbata</i> (Vahl) Kunth
		<i>Rhynchospora globosa</i> (Kunth) Roem. & Schult.
<i>Rhynchospora holoschoenoides</i> (Rich.) Herter		
	<i>Eriocaulon tenuifolium</i> Klotzsch ex Körn.	

Continuação da tabela 1...

Divisão	
Família	Espécie
	<i>Paepalanthus</i> sp. <i>Tonina fluviatilis</i> Aubl.
Fabaceae	<i>Aeschynomene paniculata</i> Willd. ex Vogel <i>Stylosanthes guianensis</i> (Aubl.) Sw. <i>Vigna juruana</i> (Harms) Verdc. <i>Zornia guanipensis</i> Pittier
Gentianaceae	<i>Coutoubea reflexa</i> Benth. <i>Schultesia guianensis</i> (Aubl.) Malme
Hydrocharitaceae	<i>Apalanthe granatensis</i> (Bonpl.) Planch.
Lentibulariaceae	<i>Utricularia breviscapa</i> Wright ex Griseb. <i>Utricularia foliosa</i> L. <i>Utricularia gibba</i> L. <i>Utricularia hispida</i> Lam. <i>Utricularia myriocista</i> A. St.-Hil. & Girard
Linderniaceae	<i>Lindernia</i> sp.
Lythraceae	<i>Cuphea antisiphilitica</i> Kunth
Malvaceae	<i>Hibiscus bifurcatus</i> Cav. <i>Melochia pyramidata</i> L.
Mayacaceae	<i>Mayaca fluviatilis</i> Aubl.
Melastomataceae	<i>Rhynchanthera grandiflora</i> (Aubl.) DC. <i>Tibouchina gracilis</i> (Bonpl.) Cogn.
Menyanthaceae	<i>Nymphoides indica</i> (L.) Kuntze
Nymphaeaceae	<i>Nymphaea gardneriana</i> Planch. <i>Nymphaea lingulata</i> Wiersema <i>Nymphaea rudgeana</i> G. Mey.
Ochnaceae	<i>Sauvagesia erecta</i> L.
Onagraceae	<i>Ludwigia leptocarpa</i> (Nutt.) H. Hara <i>Ludwigia nervosa</i> (Poir.) H. Hara

Continuação da tabela 1...

Divisão	
Familia	Espécie
	<i>Ludwigia sedoides</i> (Bonpl.) H. Hara
Plantaginaceae	<i>Bacopa reflexa</i> (Benth.) Edwall
Poaceae	<i>Panicum</i> sp.
Pontederiaceae	<i>Eichhornia azurea</i> (Sw.) Kunth
Rapataceae	<i>Duckea squarrosa</i> (Willd. ex Link) Maguire <i>Spathanthus unilateralis</i> (Rudge) Desv.
Rubiaceae	<i>Perama hirsuta</i> Aubl. <i>Sipanea pratensis</i> Aubl. <i>Sipanea</i> sp.
Xyridaceae	<i>Xyris jupicai</i> Rich. <i>Xyris laxifolia</i> Mart.

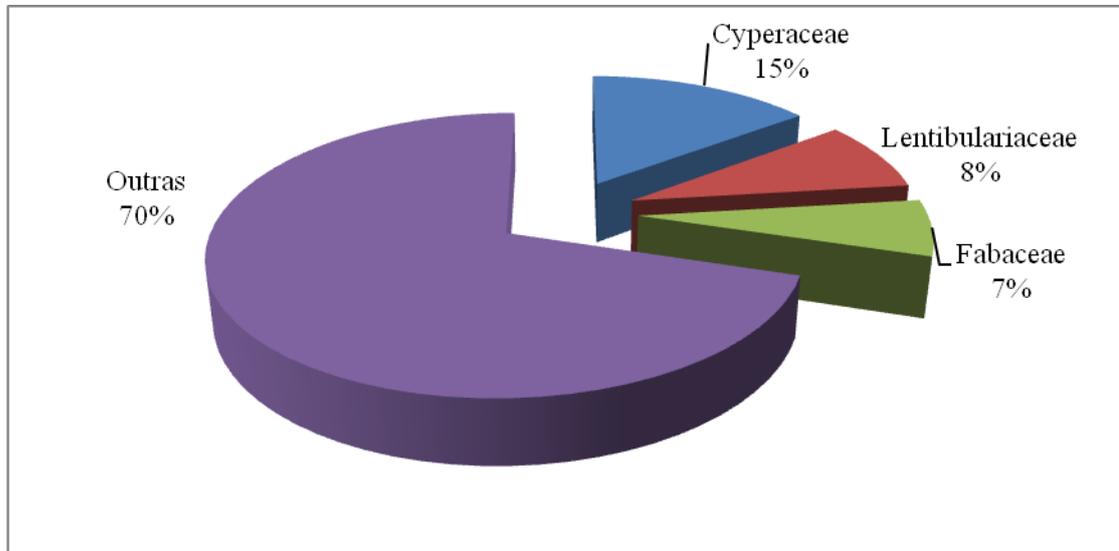
Fonte: Raissa Sampaio

Em comparação aos poucos estudos sobre flora aquática do estado de Roraima, Carranza (2006) ao estudar a vegetação no entorno de lagos em áreas de savana e Neves (2007) ao estudar o lago do trevo no município de Boa Vista, relataram a presença de 13 das 60 espécies identificadas neste trabalho. Tajuja (2010) ao realizar um levantamento no igarapé Caranã – RR encontrou 16 espécies ao total sendo 10 comuns a este levantamento. É importante destacar que este igarapé é bastante antropizado com boa parte de sua mata ciliar retirada para fins de horticultura e recreação, além de sofrer impactos com o despejo de esgoto e lixo doméstico, totalmente diferente das áreas de estudo deste trabalho, sendo as espécies em comum, classificadas como anfíbias ou tolerantes a ambientes com pouca poluição.

A família mais representativa foi Cyperaceae (9sp.), seguida por Lentibulariaceae (5sp.) e Fabaceae (4sp.) (Fig. 5). De acordo com Miranda e Absy (1997), famílias como Plantaginaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Gentianaceae e Lentibulariaceae que possuem vários gêneros e/ou espécies nas savanas de Roraima, tornaram-se características desta vegetação, sendo algumas bem representadas em campos úmidos. As mesmas foram encontradas em nosso levantamento para esta fitofisionomia (Campus do Cauamé e Campo

experimental do Água Boa). As duas últimas famílias citadas também tiveram representantes em ambientes de floresta (PARNA Viruá e ESEC Maracá).

Figura 5 - Famílias mais representativas em número de espécies nas áreas do PPBio – RR.



Fonte: Raíssa Sampaio

As espécies de Cyperaceae apresentaram maior riqueza por possuir distribuição cosmopolita e hábito herbáceo, cujos representantes crescem, na sua maioria, em regiões alagadas ou sujeitas a inundações podendo também ocorrer em ambientes nos períodos de redução da água (BOVE et al., 2003; GIL; BOVE, 2004, 2007). Segundo Matias; Amado; Nunes (2003) a elevada representatividade florística desta família está associada à eficiência na propagação vegetativa dos seus representantes devido à presença de um sistema subterrâneo que pode ser formado por rizomas ou tubérculos, sendo que algumas espécies dispõem ainda de estolões.

Em pesquisa sobre a caracterização geomorfológica e botânica realizada por Simões Filho et al. (1997) em lagos da região do município de Normandia – RR, esta família também foi citada como o principal táxon. Pott e Pott (2000) ao inventariar diversos ecossistemas aquáticos do pantanal também obtiveram as Cyperaceae como uma das mais representativas.

De acordo com Cordeiro; Mittelstaedt; Miranda (2008) as Lentibulariaceae compreendem cerca de 340 espécies de plantas carnívoras com ampla distribuição nas regiões tropicais e temperadas. Geralmente formam grandes populações em áreas brejosas, sendo responsáveis por complementarem substancialmente a massa de matéria orgânica nesses ambientes, sugerindo sua elevada importância ecológica. Em trabalhos que envolvem

levantamento de macrófitas aquáticas esta família sempre possui representantes, porém não apresenta destaque como uma das mais numerosas (JUNK; PIEDADE, 1993; POTT; POTT, 2000; BOVE et al., 2003; KITA; SOUSA, 2003; MATIAS; AMADO; NUNES, 2003; NEVES et al., 2006; LIMA et al., 2011). Lolis e Thomaz (2011) ao monitorar a composição específica de macrófitas em um reservatório no Tocantins obtiveram três representantes desta família (*U. breviscapa*, *U. foliosa* e *U. gibba*) que também foram encontrados em nosso trabalho.

Segundo Flores e Rodrigues (2010) em pesquisa realizada na área do Campus do Cauamé demonstraram que o mesmo é um sítio rico em táxons de Fabaceae, pois concentra cerca de 87% das espécies citadas para as savanas de Roraima. Neste estudo, três das quatro espécies de Fabaceae encontradas estavam presentes exclusivamente neste local. Geralmente, esta família não apresenta destaque nos trabalhos com vegetação de ambientes aquáticos e de áreas alagáveis, entretanto, Pivari et al. (2008) coletaram algumas espécies deste grupo ao realizarem um levantamento da Lagoa Silvana no estado de Minas Gerais.

Como observado na tabela 2 a maior parte das famílias botânicas apresentaram no máximo 3 sp. (25%), em seguida 8 famílias apresentaram 2 sp. (26,6%) e 11 famílias apenas uma espécie (18,4%).

Tabela 2 – Famílias com menor número de espécies encontradas nas áreas de estudo.

Nº de espécies	Famílias
Uma espécie	Burmanniaceae, Hydrocharitaceae, Linderniaceae, Lythraceae, Mayacaceae, Menyanthaceae, Ochnaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Pontederiaceae e Salviniaceae
Duas espécies	Araceae, Cabombaceae, Convolvulaceae, Gentianaceae, Malvaceae, Melastomataceae, Rapataceae e Xyridaceae
Três espécies	Alismataceae, Eriocaulaceae, Nymphaeaceae, Onagraceae e Rubiaceae

Economicamente, algumas destas famílias como Alismataceae, Cabombaceae, Nymphaeaceae, Onagraceae, Plantaginaceae, Pontederiaceae e Salviniaceae possuem importância apícola, ornamental, utilização para purificação da água, na produção de cosméticos, entre outras funções (POTT; POTT, 2000).

O gênero mais representativo foi *Utricularia* com cinco espécies, seguida por *Ludwigia*, *Nymphaea* e *Rhynchospora* que apresentaram três espécies cada uma. Certas plantas aquáticas, como as *Utricularias*, formam pequenas estruturas pilosas, que têm função de flutuadores, em disposição de estrela com três, quatro, cinco ou até seis ramificações, que sustentam a inflorescência e promovem as trocas gasosas. Esses aerênquimas das plantas flutuantes formam um microambiente muito mais rico em oxigênio. Outros gêneros como a *Eichhornia* e *Echinodorus* apresentam aerênquimas no pecíolo; outras espécies, como as *Montrichardia arborescens*, nos caules aéreos e subterrâneos facilitando as trocas gasosas com o meio (THOMAZ; COSTA-NETO; TOSTES, 2003).

No geral, táxons referentes a plantas aquáticas apresentam ampla distribuição geográfica, a qual é atribuída a características relacionadas à eficiente ocupação de áreas alagáveis, incluindo plasticidade fenotípica, elevadas taxas de crescimento vegetativo e dispersão de propágulos em longas distâncias (SANTAMARÍA, 2002), devido a isso, Meyer e Franceschinelli (2010) em estudo sobre a flora aquática em lagos no estado de Minas Gerais identificaram 224 espécies, sendo 22 comuns com a nossa listagem. Os gêneros mais encontrados foram *Rhynchospora*, *Ludwigia* e *Utricularia*. Barboza; Franco; Hernandez (2008) apresentaram a ocorrência de macrófitas em um córrego na cidade de Aparecida D’oeste – SP, sendo identificados 15 gêneros em que 7 são comuns a ambos os estudos.

Na região Norte, o estudo desse grupo de plantas se torna um desafio ainda maior devido ao grande número de rios e planícies inundáveis (PIEIDADE et al., 2010). A maior parte das espécies citadas neste trabalho já foram encontradas em outros levantamentos sobre macrófitas na Amazônia (ALBUQUERQUE, 1981; MIRANDA; ABSY, 1997; NEVES, 2006; FERREIRA; ALMEIDA; SILVA, 2008; TAJUJÁ, 2010).

Sioli (1984) aborda sobre macrófitas aquáticas em seu livro “The Amazon”, comentando que espécies como *L. sedoides* e *M. fluviatilis* são comuns em lagos de Roraima. Em nosso trabalho a última espécie foi encontrada no igarapé do Cauamé e na represa do Água Boa. Em 1983, Junk e Piedade ao inventariar herbáceas aquáticas em ambientes de várzea próximos a Manaus, identificaram 388 espécies citando apenas 6 comuns, essa baixa

coincidência se deve aos tipos de ambientes amostrados pelos autores que incluíram florestas alagáveis, ilhas flutuantes, ambientes perturbados, entre outros.

Segundo Lorenzi (2008), os táxons *A. paniculata*, *E. azurea*, *E. interstincta*, *F. umbellata*, *I. asarifolia*, *L. leptocarpa*, *M. pyramidata*, *N. indica*, *S. guayanensis*, *S. guianensis* e *U. foliosa*, encontrados durante este estudo, são consideradas ruderais ou oportunistas e são caracterizadas pela alta capacidade de adaptação e resistência as variações hidrológicas.

Segundo Helbing et al. (1986) e Camargo; Pezzato; Henry-Silva (2003), *N. indica* duplica seu crescimento durante os períodos de inundação, e reduz sua taxa de produtividade no período seco (em que o nível da água diminui) resistindo ao estresse do ambiente numa forma terrestre, com folhas menores e pecíolos mais curtos o que foi observado neste estudo.

Das formas de vida propostas por Irgang; Pedralli; Waetcher (1984), foram encontradas anfíbias (38), submersas fixas (7), flutuantes fixas (7), emergentes (6), epífita e flutuante livre com um representante cada (Tab. 3). Apenas a espécie *E. mínima* apresentou forma de vida dupla, sendo anfíbia no Água Boa e epífita (crescendo sobre material em decomposição) no PARNA Viruá e na ESEC Maracá.

Tabela 3 – Espécies de macrófitas encontradas nas áreas do PPBio – RR e áreas adjacentes com suas respectivas formas biológicas

Forma Biológica				
Anfíbia				
<i>A. martinicensis</i>	<i>E. tenuifolium</i>	<i>P. hirsuta</i>	<i>S. pratensis</i>	
<i>A. paniculata</i>	<i>F. umbellata</i>	<i>Paepalanthus</i> sp.	<i>S. unilateralis</i>	
<i>B. bicolor</i>	<i>H. bifurcatus</i>	<i>Panicum</i> sp.	<i>Sipanea</i> sp.	
<i>C. antisiphilitica</i>	<i>I. asarifolia</i>	<i>R. barbata</i>	<i>T. fluviatilis</i>	
<i>C. haspan</i>	<i>L. leptocarpa</i>	<i>R. globosa</i>	<i>T. gracilis</i>	
<i>C. reflexa</i>	<i>L. nervosa</i>	<i>R. grandiflora</i>	<i>V. juruana</i>	
<i>D. squarrosa</i>	<i>L. salzmanniana</i>	<i>R. holoschoenoides</i>	<i>X. jupicai</i>	
<i>E. mínima</i>	<i>Lindernia</i> sp.	<i>S. erecta</i>	<i>X. laxifolia</i>	
<i>E. tenellus</i>	<i>M. pyramidata</i>	<i>S. guianensis</i>	<i>Z. guanipensis</i>	
	<i>O. cubense</i>	<i>S. guianensis</i>		
Submersa fixa	Flutuante fixa	Flutuante livre	Emergente	Epífita
<i>A. granatensis</i>	<i>E. azurea</i>	<i>S. auriculata</i>	<i>E. interstincta</i>	<i>E. minima</i>
<i>B. reflexa</i>	<i>L. sedoides</i>		<i>M. arborescens</i>	
<i>C. aquática</i>	<i>N. gardneriana</i>		<i>M. linifera</i>	
<i>C. furcata</i>	<i>N. lingulata</i>		<i>S. rhombifolia</i>	

Continuação da tabela 3...

Forma Biológica				
Submersa fixa	Flutuante fixa	Flutuante livre	Emergente	Epifita
<i>M. fluviatilis</i>	<i>N. rudgeana</i>		<i>U. gibba</i>	
<i>U. breviscapa</i>	<i>N. indica</i>		<i>U. hispida</i>	
<i>U. foliosa</i>	<i>S. guayanensis</i>			
<i>U. myriocista</i>				

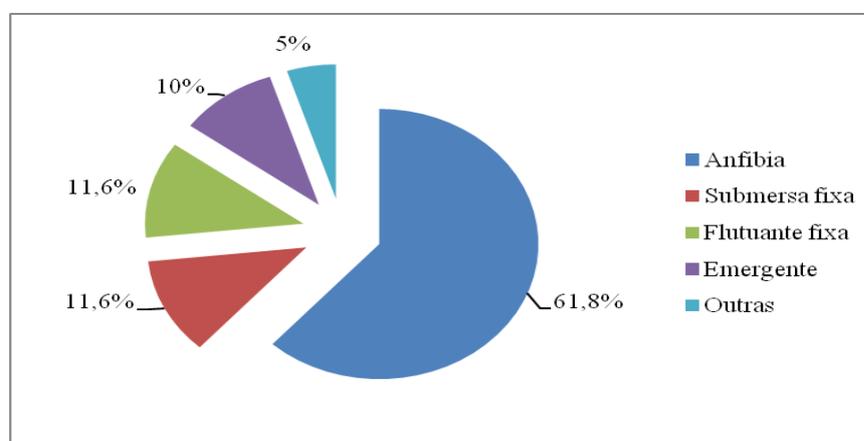
Fonte: Raissa Sampaio

No estado do Rio Grande do Sul, Hefler et al. (2009) e Spellmeier; Périco; Freitas (2009) ao estudar áreas alagadas também observaram a forma biológica anfíbia como a mais representativa. Cunha; Villhalva; Ferreira (2000) ao estudar um campo inundável no pantanal indicou a predominância de espécies emergentes e anfíbias. Ao inventariar a lagoa Figueira no estado do Paraná, Kita e Souza (2003) identificaram 41,6% das espécies como anfíbias.

A predominância de espécies com a forma biológica anfíbia (Fig. 6) parece estar relacionada ao fato de grande parte destas espécies resistirem à diminuição do volume de água (MATIAS; AMADO; NUNES, 2003).

Segundo Bove e Paz (2009) estas espécies ocorrem nas margens de lagoas, lagunas e alagados e geralmente é a forma biológica mais representativa em número de espécies. O canal do Campo Experimental do Água Boa apresentava uma forte correnteza e a pouca profundidade de alguns dos ambientes como uma das áreas alagadas do PARNA Viruá não favorecem a colonização de macrófitas submersas ou flutuantes sendo um outro motivo para o maior número de espécies anfíbias.

Figura 6 - Formas biológicas dominantes entre as espécies identificadas nas áreas do PPBio.



Fonte: Raissa Sampaio

4.1.1. Macrófitas X Locais de coleta

Dentre os locais estudados, o Campus do Cauamé apresentou maior riqueza com 33 espécies, seguido do Campo Experimental do Água Boa e do Parque Nacional do Viruá, com 30 e 19 espécies, respectivamente, e a Estação Ecológica de Maracá com 15 espécies (Tab. 4). De acordo com Magurran (1988), o número de espécies inventariadas de uma área invariavelmente aumenta com o tamanho da área amostrada e / ou esforço de amostragem. As áreas de savana possuem acesso mais fácil aos ambientes aquáticos facilitando a coleta de um maior número de espécies.

Tabela 4 - Listagem das espécies de macrófitas coletadas nas áreas do PPBio e áreas adjacentes com suas respectivas distribuições

Família	Espécie	Cauamé	Água Boa	Viruá	Maracá
Alismataceae	<i>E. tenellus</i>	X			
	<i>S. guayanensis</i>	X			
	<i>S. rhombifolia</i>	X	X	X	
Araceae	<i>M. arborescens</i>				X
	<i>M. linifera</i>		X	X	
Burmanniaceae	<i>B. bicolor</i>			X	
Cabombaceae	<i>C. aquatica</i>			X	
	<i>C. furcata</i>	X	X		X
Convolvulaceae	<i>A. martinicensis</i>	X			
	<i>I. asarifolia</i>	X	X		
Cyperaceae	<i>C. haspan</i>	X	X		X
	<i>E. interstincta</i>	X			X
	<i>E. minima</i>		X	X	X
	<i>F. umbellata</i>	X			X
	<i>L. salzmanniana</i>	X			
	<i>O. cubense</i>				X
	<i>R. barbata</i>	X	X	X	
	<i>R. globosa</i>		X		
	<i>R. holoschoenoides</i>	X	X		
Eriocaulaceae	<i>E. tenuifolium</i>			X	

Continuação da tabela 4...

Família	Espécie	Cauamé	Água Boa	Virúá	Maracá
Fabaceae	<i>Paepalanthus</i> sp.			X	
	<i>T. fluviatilis</i>		X		
	<i>A. paniculata</i>	X	X		
	<i>S. guianensis</i>	X			
	<i>V. juruana.</i>	X			
Gentianaceae	<i>Z. guanipensis</i>	X			
	<i>C. reflexa</i>			X	
Hydrocharitaceae	<i>S. guianensis</i>		X		
	<i>A. granatensis</i>	X	X		
Lentibulariaceae	<i>U. breviscapa</i>	X			X
	<i>U. foliosa</i>	X		X	X
	<i>U. gibba</i>		X		
	<i>U. hispida</i>			X	
	<i>U. myriocista</i>		X		
	Linderniaceae	<i>Lindernia</i> sp.		X	
Lythraceae	<i>C. antisiphilitica</i>			X	
Malvaceae	<i>H. bifurcatus</i>	X	X		
	<i>M. pyramidata</i>	X	X		
Mayacaceae	<i>M. fluviatilis</i>	X	X		
Melastomataceae	<i>R. grandiflora</i>	X			
	<i>T. gracilis</i>		X		
Menyanthaceae	<i>N. indica</i>	X	X		X
Nymphaeaceae	<i>N. gardneriana</i>	X		X	X
	<i>N. lingulata</i>				X
	<i>N. rudgeana</i>	X	X	X	
Ochnaceae	<i>S. erecta</i>	X	X		
Onagraceae	<i>L. leptocarpa</i>	X			X
	<i>L. nervosa</i>		X		

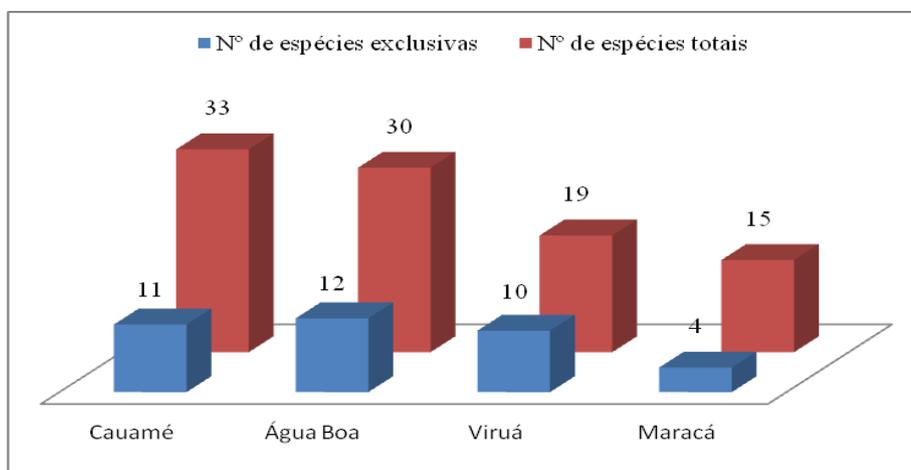
Continuação da tabela 4...

Família	Espécie	Cauamé	Água Boa	Viruá	Maracá
Plantaginaceae	<i>L. sedoides</i>	X	X	X	
	<i>B. reflexa</i>	X			
Poaceae	<i>Panicum</i> sp.		X		
Pontederiaceae	<i>E. azurea</i>	X		X	X
Rapataceae	<i>D. squarrosa</i>			X	
	<i>S. unilateralis</i>			X	
Rubiaceae	<i>P. hirsuta</i>		X		
	<i>S. pratensis</i>		X		
Salviniaceae	<i>Sipanea</i> sp.			X	
	<i>S. auriculata</i>				X
Xyridaceae	<i>X. jupicai</i>	X			
	<i>X. laxifolia</i>		X		

Fonte: Raíssa Sampaio

De acordo com a figura 7, 20% das espécies foram exclusivas para o Campo Experimental do Água Boa, 18,3% para o Campus do Cauamé, 16,6% para o PARNA Viruá, e 6,6% para a ESEC Maracá. Nenhuma espécie apresentou distribuição de 100% em relação aos locais de coleta.

Figura 7 – Quantidade de espécies totais e exclusivas para cada área de coleta.



Fonte: Raíssa Sampaio

Segundo Biudes e Camargo (2008) algumas espécies crescem em ambientes com altas taxas de luminosidade enquanto outras estão adaptadas às condições de sombra. No Campus do Cauamé e Campo do Água Boa, que estão localizados em área de savana, os ambientes são rodeados por vegetação herbácea e recebem grande quantidade de energia solar, favorecendo a proliferação e o desenvolvimento de macrófitas. No PARNA Viruá e na ESEC Maracá, a maioria dos ambientes aquáticos são sombreados devido à vegetação circundante (floresta) e apresentavam alta correnteza não favorecendo o aparecimento destas plantas e por isso não foram inclusos nesse trabalho.

Esteves (1998) relata que a velocidade da água tem efeito sobre macrófitas flutuantes livres, pois as mesmas não se encontram enraizadas no substrato podendo ser carregadas pela correnteza, e sobre macrófitas submersas impedindo seu desenvolvimento em locais com alta velocidade da água ou sem nenhum fluxo. A radiação subaquática também é um fator limitante ao desenvolvimento deste último tipo biológico citado.

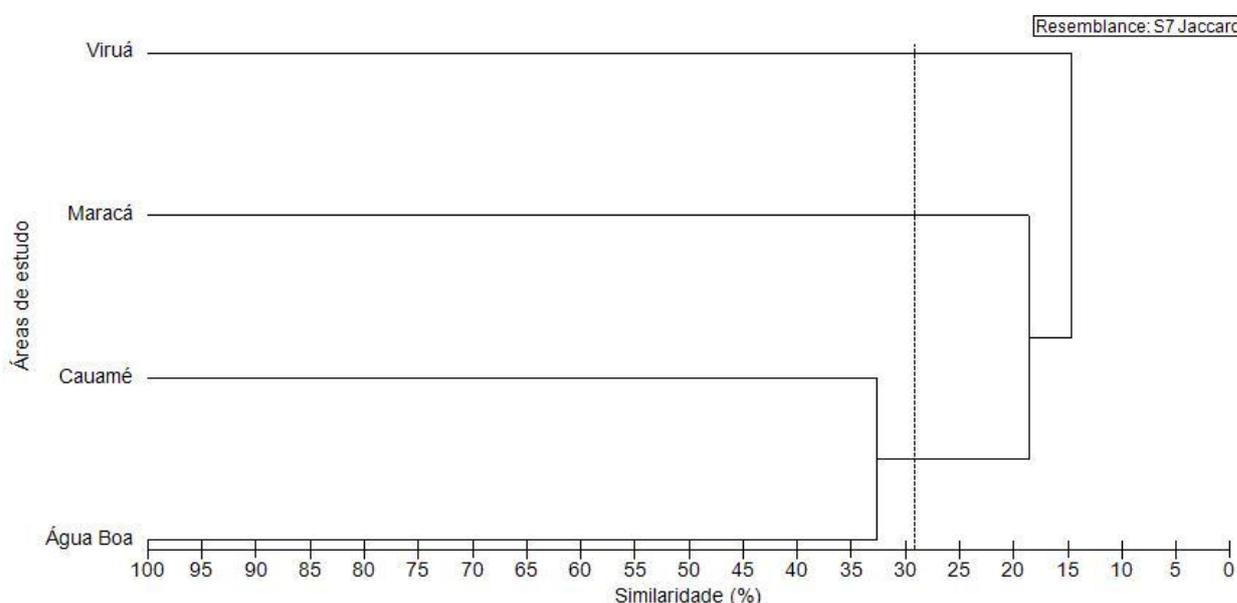
Pesquisas como a de Miranda e Absy (1997) apresentam uma lista de 576 espécies de angiospermas coletadas desde 1960 por vários pesquisadores em áreas de savana, dentre as quais 31% são representantes de campos úmidos e 1% de ambientes aquáticos. Não foi descrito pelos autores as espécies: *A. martinicensis*, *A. granatensis*, *B. reflexa*, *C. furcata*, *E. tenellus*, *E. azurea*, *E. mínima*, *H. bifurcatus*, *L. salzmanniana*, *L. leptocarpa*, *M. fluviatilis*, *M. pyramidata*, *M. linifera*, *N. gardneriana*, *N. indica*, *S. guianensis*, *T. gracilis*, *T. fluviatilis*, *U. breviscapa*, *V. juruana*, *X. jupicai*, *Z. guanipensis*.

Milliken e Ratter (1998) ao realizarem estudos na ilha de Maracá, identificaram algumas espécies de plantas aquáticas não sendo citadas *C. haspan*, *E. interstincta*, *E. mínima*, *F. umbellata*, *L. leptocarpa*, *M. arborescens*, *N. gardneriana*, *N. lingulata*, *N. indica*, *O. cubense*, *S. auriculata* e *U. breviscapa*.

As espécies da família Salviniaceae têm preferência por ambientes lênticos devido a sua estratégia reprodutiva (por esporos) e a forma biológica (flutuante livre) adotada pelos seus representantes (MORAN, 1995). Sendo assim, *S. auriculata* foi observada em grande abundância na área alagada da Ilha de Maracá e alguns autores (FELLIPO, 2003; ARAÚJO; NASCIMENTO; PEREIRRA, 2007; FRANCISCO; PORTES; BARRETO, 2007; SILVA, 2011) relatam sua ocorrência sempre em ambientes com intensa quantidade de nutrientes, seja por ação antrópica ou por fenômenos naturais, sendo necessário um estudo detalhado para inferir sobre esta condição.

De acordo com o teste de Monte Carlo, as áreas de estudo que apresentaram índices de Jaccard acima de 29% foram consideradas significativamente similares, quanto a sua estrutura florística. O dendograma da figura 8 evidencia que as áreas de savana são mais similares entre si do que esses dois locais com o PARNAViruá e com a ESEC Maracá. Isso se deve ao fato das áreas de savana apresentarem ambientes mais similares de coleta, já que no Cauamé foram feitas amostragens em um lago e um igarapé e no Água Boa em uma represa e um canal, além é claro dos dois ambientes estarem localizados no mesmo tipo de fitofisionomia apresentando espécies características deste tipo de vegetação. O PARNAViruá por estar em áreas de campinas/campinaranas apresentou espécies que não tinham sido coletadas em nenhuma das duas outras áreas. A ESEC Maracá obteve espécies comuns aos primeiros ambientes citados, não sendo os dados significativos para torná-la similar com os mesmos.

Figura 8 - Dendrograma da similaridade florística das macrófitas aquáticas entre as áreas do PPBio, acompanhado do teste de permutação Monte Carlo = 0,29 (com 2.000 replicações, $\alpha = 5\%$).



Fonte: Raíssa Sampaio

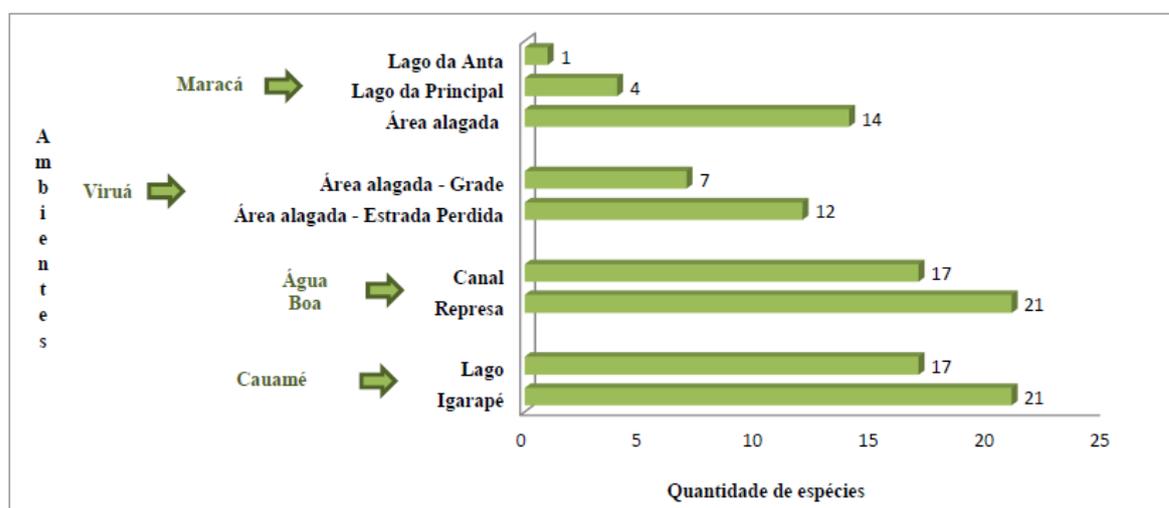
Em relação aos ambientes de coleta, a figura 9 mostra a quantidade de espécies em cada tipo de ecossistema.

Os ecossistemas lênticos e lóticos das áreas de savana não apresentaram uma diferença significativa em número de espécies. Durante as coletas de campo, observou-se que os ecossistemas lênticos apresentaram uma maior quantidade de macrófitas flutuantes e

submersas do que os lóticos que tiveram sua maior contribuição de riqueza através das espécies anfíbias.

Segundo Thomaz e Bini (2003) ecossistemas lênticos apresentam elevadas concentrações de nutrientes, taxa de sedimentação e estabilidade do substrato para fixação relativamente altos, que podem favorecer o crescimento de macrófitas aquáticas flutuantes. Diferentemente, ambientes lóticos apresentam uma maior heterogeneidade ambiental, devido à influência de material autóctone que pode afetar a concentração de nutrientes, e também devido à turbulência das águas que afeta negativamente a diversidade, abundância e crescimento das macrófitas flutuantes.

Figura 9 - Quantidade de espécies por ambiente de coleta



Fonte: Raíssa Sampaio

O Igarapé do Campus do Cauamé e a Represa do Campo experimental do Água Boa apresentaram um maior número de espécies porém cada ambiente foi influenciado por diferentes formas biológicas corroborando com os autores citados anteriormente. O PARNA Viruá e a ESEC Maracá possuem além desses ambientes estudados outros ecossistemas aquáticos o que pode aumentar ainda mais o número de macrófitas aquáticas através de estudos posteriores.

Sendo assim, percebeu-se que os fatores que influenciaram mais a composição florística de cada ambiente estudado foram o tipo de vegetação circundante definindo a composição e a quantidade das espécies e o tipo de ecossistema (lêntico e lótico) já que

fatores físico-químicos não foram abordados neste trabalho sendo uma lacuna para estudos mais detalhados que envolvam essa relação biológica (macrófitas x fatores físico-químicos).

4.2 Extração de DNA

Foram realizadas nove extrações através do método CTAB modificado das seguintes macrófitas conforme a tabela 5. Utilizou-se também o “Kit” Nucleon Phytopure (Amersham/Life Science) para comparação da melhor metodologia.

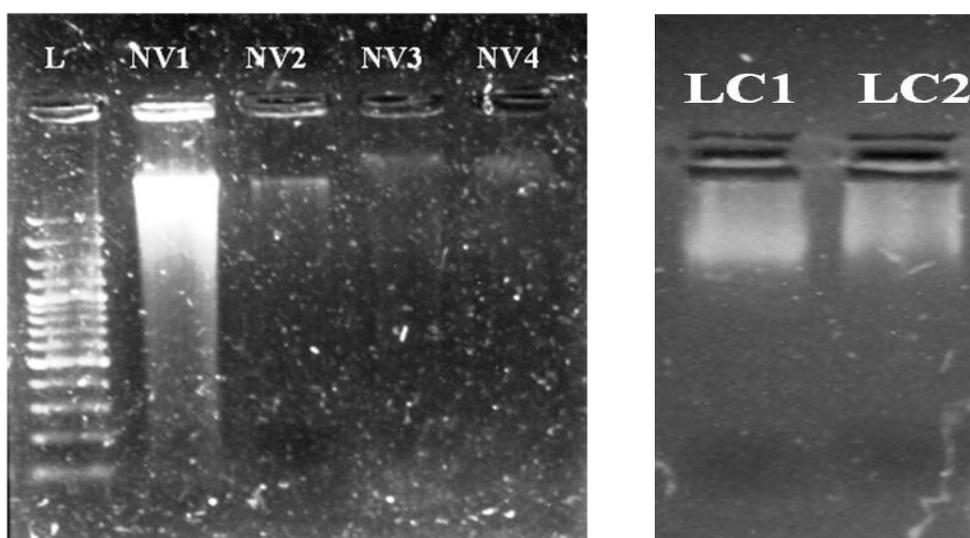
Tabela 5 - Gênero de plantas que tiveram seu DNA extraído e seu local de origem.

Gênero	Local			
	Cauamé	Água Boa	Maracá	Vuruá
<i>Nymphaea</i> sp.	X	X	X	X
<i>Montrichardia</i> sp.		X		
<i>Eichhornia</i> sp.	X			
<i>Ludwigia</i> sp.	X			
<i>Nymphoides</i> sp.	X			
<i>Salvinia</i> sp.			X	

Fonte: Raíssa Sampaio

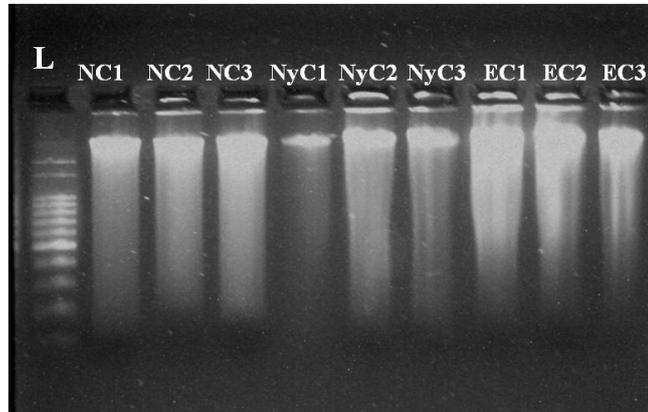
As figuras de 10 a 13 mostram os resultados da extração de DNA através do método CTAB, porém algumas amostras apresentaram problemas. A letra L indica o marcador molecular usado como padrão para comparação das bandas de DNA visualizadas.

Figura 10 – Amostras de *Nymphaea* (NV1 à NV4) do PARNA Viruá e amostras de *Ludwigia* (LC1 – LC2) do lago do Campus do Cauamé.



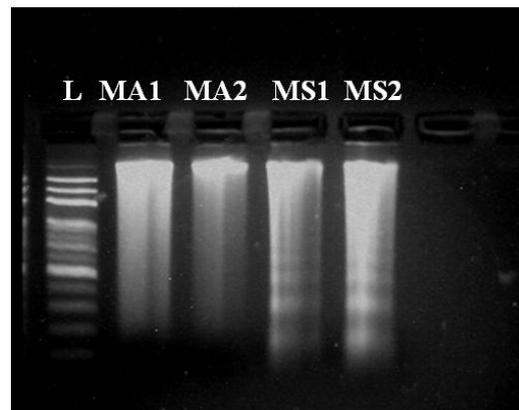
Fonte: Raíssa Sampaio

Figura 11 – Amostras de *Nymphaea* (NC1 – NC3), *Nymphoide* (NyC1 – NyC3) e *Eichhornia* (EC1 – EC3) do lago do Campus do Cauamé.



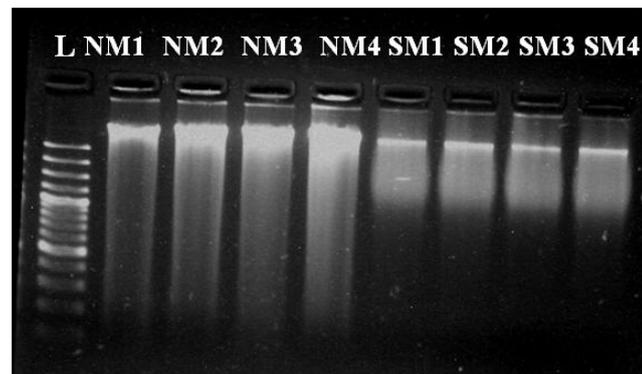
Fonte: Raíssa Sampaio

Figura 12 – Amostras de *Montrichardia* (MA1, MA2, MS1, MS2) da represa do Campo experimental do Água Boa. MA1 e MA2 foram congeladas a -70°C . MS1 e MS2 foram desidratadas com sílica e congeladas a -70°C .



Fonte: Raíssa Sampaio

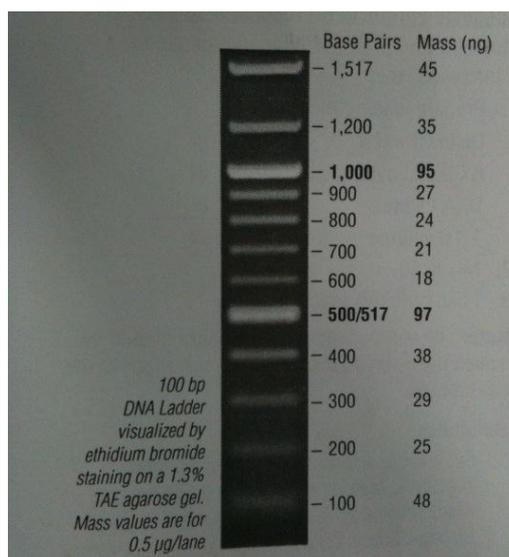
Figura 13 – Amostras de *Nymphaea* (NM1 – NM4) e de *Salvinia* (SM1 – SM4) da Estação Ecológica de Maracá.



Fonte: Raíssa Sampaio

A quantidade de DNA extraído das amostras (observadas nas figuras 10 a 13) mostrou-se equivalente na análise dos géis de agarose quando comparado com a intensidade das bandas do marcador de peso molecular, conforme dados do fabricante (NEW ENGLAND- BioLabs®) (Figura 14), apresentando bandas com intensidade próximas ao tamanho de 500 pares de bases ou 97ng.

Figura 14 – L (Ladder) - marcador de peso molecular (NEW ENGLAND- BioLabs®).



Fonte: BioLabs®

Em um trabalho realizado por Feres et al. (2005) comparando diferentes metodologias de preservação das amostras para extração, eles concluem que o método CTAB não é eficaz para obtenção de DNA da planta *Kielmeyera lathrophyton* Saddi. Em nosso resultado este método mostrou-se eficiente para obtenção do material gênico de plantas aquáticas, porém algumas contaminações aconteceram sendo necessárias modificações para uma melhor qualidade.

As amostras de *Nymphaea* do PARNA Viruá e *Ludwigia* do Cauamé apresentaram um precipitado viscoso. Segundo Romano e Brasileiro (1999) amostras que apresentam precipitado com aspecto gelatinoso estão contaminadas por polissacarídeos sendo evidenciada a importância da coleta de folhas jovens que facilita a posterior precipitação do DNA pela maior quantidade de células em divisão.

Segundo Peterson et al. (1997 apud STEFENON; NODARI; GUERRA, 2004) precipitados escuros são formados devido à ligação covalente de polifenóis oxidados ao DNA

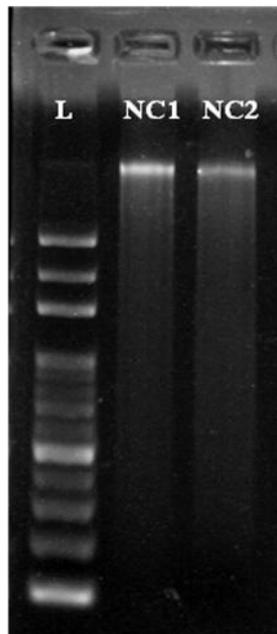
e podem ser evitados através da adição do β -mercaptoetanol ao tampão de extração. As amostras que apresentaram precipitado viscoso também o apresentaram um pouco escuro.

Os principais agentes contaminantes das amostras extraídas foram os polissacarídeos e as proteínas, assim adaptamos o método do CTAB com a adição de proteinase K no processo a uma concentração final de 50 μ g/ml, o que se demonstrou eficaz e diminui a quantidade de proteínas presentes nas amostras (figura 15).

Vários autores descrevem problemas no isolamento e purificação de DNA vegetal de boa qualidade (ROGERS; BENDICH, 1994). Esses problemas são resultantes principalmente do co-isolamento de polissacarídeos, substâncias fenólicas e compostos secundários.

A maior parte das amostras apresentou arraste vertical no gel que pode ser explicado pela ação de DNAses que degradaram o DNA ou porque ocorreu quebra mecânica durante a extração com o clorofórmio (ROSO; VIDAL, 2010).

Figura 15 - Amostras de *Nymphaea* do lago do Cauamé extraídas através do CTAB com adição de Proreinase K.

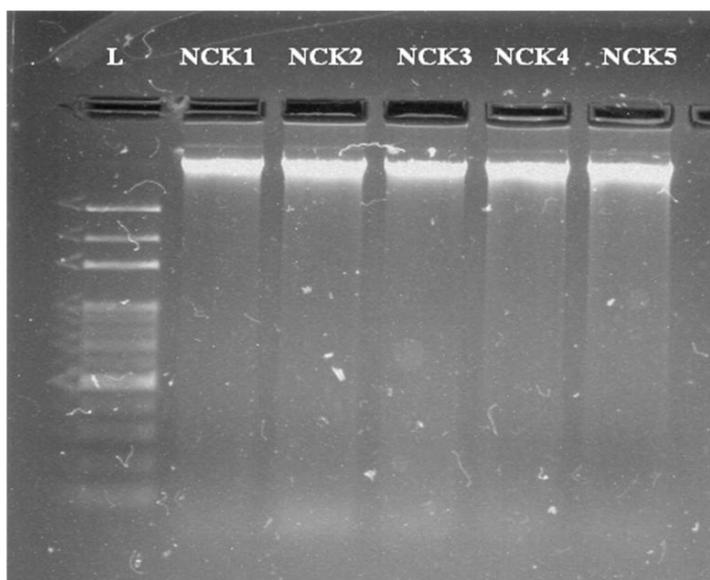


Fonte: Raíssa Sampaio

A maioria dos protocolos descritos na literatura utilizam o protocolo CTAB padrão, com algumas modificações, com vistas a resolver problemas específicos da espécie em estudo.

As extrações através do “Kit” Nucleon Phytopure foram aplicadas a amostras de *Nymphaea* sp. coletadas no lago do Campus do Cauamé para uma comparação da melhor qualidade e quantidade. Esse kit possui uma resina capaz de remover compostos polissacarídeos e/ou polifenóis que possam estar presentes nas amostras procurando eliminar qualquer tipo de contaminação. A figura 16 mostra o resultado da extração através do kit.

Figura 16 – Amostras de *Nymphaea* do lago do Cauamé extraídas através do Kit Nucleon Phytopure.



Fonte: Raíssa Sampaio

Podemos observar que as amostras extraídas com o Kit Nucleon Phytopure apresentaram no gel de agarose uma melhor quantidade e qualidade como verificado por espectrofotometria ($\text{Å}_{260\text{nm}}$ 0,39 a 1,106 / $\text{Å}_{280\text{nm}}$ 0,79 a 0,093 com uma razão de pureza 1,58 - 1,65) (Apêndice A), mas para verificarmos se as amostras se manterão conservadas até o momento da sua utilização será necessário uma nova avaliação da qualidade após o armazenamento das mesmas por um período de mais de 1 ano.

O número de plantas que passaram pelo processo de extração possibilitou o início da formação de um Banco de DNA conforme a figura 17. As amostras foram identificadas com a primeira letra do nome de cada espécie, em seguida pelo local de ocorrência e pelo número da subamostra. Na lateral do microtubo foi colocada a metodologia pelo qual o DNA foi obtido. Essa organização permitirá que posteriormente se identifique por qual método as amostras conservaram sua qualidade e quantidade mesmo estando armazenadas sobre as mesmas condições.

Figura 17 – Banco de DNA das macrófitas aquáticas armazenado em freezer a -70°C no LaBMOL (CBio – UFRR).



Fonte: Raíssa Sampaio

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Durante todo o desenvolvimento deste trabalho, buscou-se acrescentar conhecimentos sobre a biodiversidade no estado de Roraima, sendo o primeiro passo o levantamento desta grande comunidade que são as plantas aquáticas.

Sendo assim, estudos relacionados à ecologia desta comunidade e que tragam respostas como a associação das macrófitas com outros organismos, fatores abióticos e bióticos que influenciam sua composição, sucessão ecológica, biomassa, substâncias que compõe uma determinada espécie, entre outros, serão pioneiros no estado e irão aumentar o número de estudos que envolvam estes vegetais, sendo um dos objetivos da equipe do laboratório de Ecologia Vegetal.

A quantidade de macrófitas que tiveram seu DNA extraído possibilitou o início da criação de um banco, então outros vegetais aquáticos passarão pelo mesmo processo abrindo portas para futuras pesquisas nas áreas de filogenia e genética da conservação.

Atualmente, muitos estudos envolvendo a taxonomia e a biologia molecular estão sendo realizados para identificação mais precisa e concreta de certas espécies. O DNA então é utilizado como ferramenta sistemática, sendo os Bancos de DNA um novo tipo de coleção que permitem este e outros avanços, além, é claro de outras utilidades.

Em projetos futuros pretende-se utilizar esse Banco para trabalhos de mestrado e parcerias com outras instituições aprimorando as técnicas e aprofundando as pesquisas.

6 CONCLUSÕES

O levantamento florístico de macrófitas aquáticas nas áreas de estudo foi satisfatório, proporcionando gerar uma lista de 60 espécies, fator indispensável na conservação de táxons pouco conhecidos no Estado de Roraima. O número de espécies coletadas define um ambiente conservado, porém mais estudos na área de genética, limnologia, fisiologia, entre outros são necessários para ampliar o conhecimento sobre as plantas aquáticas.

A família Cyperaceae destacou-se como a mais representativa dos ambientes estudados sendo importante na estabilização de sedimentos, seguida por famílias como Lentibulariaceae e Fabaceae que possuem respectivamente funções como a formação de um micro-habitat rico em oxigênio e na assimilação de nitrogênio pelas plantas devido à presença de bactérias em suas raízes.

Neste trabalho apenas a espécie *S. auriculata* que foi observada na área alagada da Ilha de Maracá é considerada por muitos autores pioneira na sucessão de espécies em locais alterados pelo homem sendo necessários estudos mais detalhados para afirmar sobre esta condição.

As espécies *N. indica* e *N. rudgeana* são espécies indicadoras de ambiente conservados ou pouco poluídos reafirmando as condições de preservação destes locais.

A forma biológica anfíbia foi a mais predominante com 61,8% por seus representantes estarem adaptados as situações de seca e a maioria pertencerem à família Cyperaceae que foi a mais numerosa neste trabalho.

Dentre os ambientes estudados, os mais ricos foram o igarapé do Campus do Cauamé e a represa do Campus Experimental do Água Boa, ambos com 22 espécies. Em relação aos locais de coleta, o Campus do Cauamé foi o mais numeroso com 33 espécies.

As extrações de DNA, após algumas modificações, permitiram a adequação de um protocolo para obtenção do material genético de plantas aquáticas apresentando bons resultados que foram demonstrados através da eletroforese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, B. W. P. Plantas Forrageiras da Amazônia: I - aquáticas flutuantes. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 11, n. 3, p. 457-471, 1981.
- AMARAL, M. C. et al. **Guia de campo para plantas aquáticas e palustres do estado de São Paulo**. 1ed. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 452p.
- ANDERSON, A. B.; PRANCE, G. T.; ALBUQUERQUE, B. W. P. Estudo sobre a vegetação das campinas amazônicas – III A vegetação lenhosa da Campina da reserva Biológica INPA – SUFRAMA. **Acta Amazonica**, Manaus, v.5, n.3, p. 225-246, jul/set, 1975.
- ARAÚJO, T. O.; NASCIMENTO, P. R. F.; PEREIRA, S. M. B. Comparação da Biomassa Da Planta Aquática daninha *Salvinia Molesta* Mitchell registrada na região Metropolitana do Recife e Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. In: Congresso de Ecologia do Brasil, VIII, 2007, Caxambu. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**. Caxambu: SEB, 2007. p. 1-3.
- APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v.161, n. 2, p. 105 – 121, out., 2009.
- BARBOSA, R. I. et al. The “*Lavrados*” of Roraima: Biodiversity and Conservation of Brazil’s Amazonian Savannas. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, n. 1, p. 29 - 41, 2007.
- BARBOSA, R. I.; MIRANDA, I. S. Fitofisionomias e diversidade vegetal das savanas de Roraima. In: BARBOSA, R. I.; XAUD, H. A. M.; COSTA E SOUZA, J. M. (Ed.). **Savanas de Roraima: Etnoecologia, Biodiversidade e Potencialidades Agrossilvipastoris**. Boa Vista: FEMACT, 2005. p. 61-78.
- BARBOSA, R. I.; VITAL, M. J. S.; CASTILHO, C. V. **Relatório 2006-2009 (PPBio) – Núcleo Regional Roraima**. Boa Vista: INPA, 2009. 15p.
- BARBOZA, G. C.; FRANCO, R. A. M.; HERNANDEZ, F. B. T. Ocorrência de macrófitas aquáticas no córrego do Boi. In: **II Workshop internacional de inovações tecnológicas na irrigação e I simpósio brasileiro sobre o uso múltiplo da água**, Fortaleza, 2008.
- BERG, C. V. D. Nota técnica: Bancos de DNA de Plantas. In: Workshop de Diretrizes e Estratégias para a Modernização de Coleções Biológicas Brasileiras e a Consolidação de Sistemas Integrados de informação sobre Biodiversidade, n. 1, 2005, Brasília. **Anais do workshop de Diretrizes e Estratégias para a Modernização de Coleções Biológicas Brasileiras e a Consolidação de Sistemas Integrados de informação sobre Biodiversidade**. Brasília: CRIA, 2005. Disponível em: <http://www.cria.org.br/cgee/col/>. Acesso em: 27 de junho de 2011
- BEYRUTH, Z. Aquatic macrophytes from a marginal pond at Embu-Mirim river, São Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.26, n. 4, p.272-282, ago., 1992.
- BIUDES, J. F. V.; CAMARGO, A. F. M. Estudos dos fatores limitantes à produção primária por macrófitas aquáticas no Brasil. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 7-19, 2008.

BOVE, C. P.; PAZ, J. **Guia de campo das Plantas Aquáticas do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba**. 1. ed. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2009. 176p.

BOVE, C. P. et al. Hidrófitas fanerogâmicas de ecossistemas aquáticos temporários da planície costeira do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, Rio de Janeiro, v.17, n.1, p.119-135, jan./mar., 2003.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio Amazônia). **Delineamento espacial e protocolo de coletas**. Belém: INPA/MPEG, 2005. 66p.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. Departamento Nacional da Produção Mineral. **Projeto RADAMBRASIL - Levantamento dos Recursos Naturais**. v. 8. Rio de Janeiro: SEMA, 1975. 509p.

CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, M. M.; HENRY-SILVA, G. G. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Org.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003. p. 59-83.

CARRANZA, T. T. **Flora e fitossociologia de áreas circundantes a lagos naturais de savanas próximas à cidade de Boa Vista – RR**. 2006. 44f. Monografia (Pós-graduação em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.

CHAPIM III, F. S. et al. Consequences of changing biodiversity. **Nature**, v. 405, n.6783, p. 234-242, Maio, 2000.

COOK, C. D. K. **Aquatic plant book**. 2.ed. Amsterdam: SPB Academic Publishing, 1996. 228p.

CORDEIRO, A. L.; MITTELSTAEDT, C. A.; MIRANDA, V. F. O. Estudos taxonômicos de Lentibulariaceae de área de várzea no município de Mogi das Cruzes (SP). In: XI Congresso de Iniciação Científica, XI, 2008, São Paulo. **Anais do XI Congresso de Iniciação Científica**. São Paulo: CIC, 2008. p. 1-2.

CUNHA, C. N.; VILLHALVA, D. A. A.; FERREIRA, H. Espécies de campo inundável e de brejo, Fazenda Retiro Novo, Pantanal de Poconé, MT (lista preliminar). In: III Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal: Os Desafios do Novo Milênio, III, Corumbá. **Anais do III Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal: Os Desafios do Novo Milênio**. Corumbá: Embrapa, 2000. p. 1-14.

ESTEVES, S.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência – FINEP, 1998. 575p.

ESTEVES, S.A.; CAMARGO, A. F. M. Sobre o papel das macrófitas aquáticas na estocagem e ciclagem de nutrientes. **Acta Limnológica Brasiliensia**, Rio Claro, v. 1, n.1, p. 273-298, jan./mar., 1986.

FRANCISCO, L. V.; PORTES, P. V. A.; BARRETO, R. C. Perspectivas ecológicas através do levantamento e distribuição das macrófitas aquáticas nos açudes da Reserva Ecológica de Dois Irmãos – Recife – Pernambuco. In: Congresso de Ecologia do Brasil, VIII, 2007, Caxambu. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**. Caxambu: SEB, 2007. p. 1-2.

FELLIPO, R. Colonização e regressão da comunidade de macrófitas aquáticas no reservatório da UHE Serra da Mesa - Goiás. In THOMAZ, SM. e BINI, LM. (Ed.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: Eduem, 2003. p. 281-297.

FERES, F. et al. Avaliação de métodos de preservação de amostras de plantas de Savanas Neotropicais para a obtenção de DNA de alta qualidade para estudos moleculares. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 277-283, abr./jun., 2005.

FERREIRA, L. V.; ALMEIDA, S. S.; SILVA, A. S. As vegetações sujeitas a influência da planície de inundação na Floresta Nacional de Caxiuana. In: **Colóquio Ecologia da Floresta Amazônica: Ambientes, Gente & Plantas, Belém**, Artigos do Colóquio Ecologia da Floresta Amazônica: Ambientes, Gente & Plantas, Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi, 2011.

FLORES, A. S.; RODRIGUES, R. S. Diversidade de Leguminosae em uma área de savana do estado de Roraima, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, Rio de Janeiro, v. 24, n.1, p. 175-183, mês, 2010.

GIL, A. S. B.; BOVE, C. P. Eleocharis R. Br. (Cyperaceae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 7, n. 1, p. 36-45, 2007.

GIL, A. S. B.; BOVE, C. P. O gênero Eleocharis R. Br. (Cyperaceae) nos ecossistemas aquáticos temporários da planície costeira do Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Mus. Nac.**, v. 62, n. 2, p. 131-150, 2004.

HEFLER, S. M. et al. Diversidade de macrófitas aquáticas em uma área do banhado 25, distrito de povo novo, Rio Grande, RS. In: Congresso de Ecologia do Brasil, IX, 2009, São Lourenço, **Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil**, São Lourenço: SEB, 2009, p. 1-4.

HELBING, U. W. et al. Influencia dos produtos de decomposição da macrófita aquática *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze, na composição química da água da represa do Lobo (Broa) - São Paulo. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.1, p. 611-637, 1986.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M.. Composição química de quatro espécies de macrófitas aquáticas e possibilidade de uso de suas biomassas. **Naturalia**, São Paulo, v. 25, p. 111-125, 2000.

IRGANG, B. E.; PEDRALLI, G.; WAETCHER, J. L. Macrófitas aquáticas da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. **Roessléria**, Porto Alegre, v.6, n.1, p.395 - 404. 1984.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Banco de DNA: Espécies da flora brasileira.** Disponível em: http://www.jbrj.gov.br/pesquisa/div_molecular/bancodna/sobre.htm. Acesso em: 03 de maio de 2012.

JUNIOR, T. S. **Roraima: o Brasil do hemisfério norte**. Boa Vista: Fundação do Meio Ambiente e Tecnologia de Roraima/AMBTEC, 1994. 512p.

JUNK, W. J. As águas da região amazônica. In: SALATI, E.; SHUBART, H. O. R.; JUNK, W.; OLIVEIRA, A. E. (Ed.) **Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia**. São Paulo: Brasiliense/Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. p.45-100.

JUNK, W. J. Investigation on the Ecology and Production-biology of the “Floating Meadows” (*Paspalo-Echinochloetum*) on the Middle Amazon. Part I: The Floating Vegetation and its Ecology. **Amazoniana**, Alemanha, v. 2, n.4, p.449-495, 1970.

JUNK, W. J.; PIEDADE, M. T. F. Herbaceous plants of the Amazon floodplain near Manaus: Species diversity and adaptations to the flood pulse. **Amazoniana**, v. 12, n. 3-4, p. 467 – 484, 1993.

KITA, K. K.; SOUZA, M. C. Levantamento florístico e fitofisionomia da lagoa Figueira e seu entorno, planície alagável do alto rio Paraná, Porto Rico, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 145-155, 2003.

LIMA, L. F. et al. Composição florística e chave de identificação das macrófitas aquáticas ocorrentes em reservatórios do estado de Pernambuco. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 62, n.4, p. 771 – 783. 2011.

LIMA, L. F. et al. Diversidade de macrófitas aquáticas no estado de Pernambuco: Levantamento em herbário. **Revista de Geografia**, Recife, v. 26, n. 3, p.307-319, set./dez., 2009.

LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012>>. Acesso em: 23 de maio de 2012.

LOLIS, S. F.; THOMAZ, S. M. Monitoramento da composição específica da comunidade de macrófitas aquáticas no reservatório Luis Eduardo Magalhães. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 247-258, 2011.

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil: Terrestres, aquáticas e tóxicas**. 4ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 640p.

MAGURRAN, A.E. **Measuring biological diversity**. Malden: Blackwell Science Ltd, 2004.

MANLY, B. F. J. **Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology**. 2ed. London: Chapman and Hall, 2007.

MAGURRAN, A.E. **Ecological diversity and its measurement**. Princeton: Princeton University, 1988.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. **Coleta e identificação de espécies botânicas**. Belém: Embrapa Amazônia oriental, 2002.

MATIAS, L. Q.; AMADO, E. R.; NUNES, E. P. Macrófitas aquáticas da lagoa de Jijoca de Jericoacoara, Ceará, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.17, n. 4, p. 623-631, 2003.

MAZZA, M. C. M.; BITTENCOURT, J. V. M. Extração de DNA de tecido vegetal de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Bol. Pesq. Fl.**, Colombo, n. 41, jul./dez., 2000. p.12-17.

MEYER, S. T.; FRANCESCHINELLI, E. V. Estudo florístico de plantas vasculares associadas às áreas úmidas na Cadeia do Espinhaço (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 4, p. 677 – 691, out./dez., 2010.

- MILLIKEN, W.; RATTER, J. A. The Vegetation of the Ilha de Maracá. In: MILLIKEN, W.; RATTER, J. A. (Ed.) **Maracá: the biodiversity and environment of Amazonian rainforest**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1998, p. 71-112.
- MIRANDA, I. S. ABSY, M. L. A flora fanerogâmica das savanas de Roraima. In: BARBOSA, R. I.; FERREIRA, E. J. G.; CASTELLÓN, E. G. INPA (Eds.). **Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**. Manaus: INPA, 1997, p. 445-455.
- MITCHELL, D.S. Factors influencing the explosive growth of floating aquatic weeds in tropical areas. **Rhodesia Science News**, v. 5, n.1, p. 9 – 17, 1971.
- MORAN, R.C. Salviniaceae. In: DAVIDSE, G.; SOUSA, M. & KNAPP, S. (Eds.). **Flora Mesoamericana**. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1995. p. 1-395.
- NEVES, E. L. et al. Plantas aquáticas vasculares em uma lagoa de planície costeira no município de Candeias, Bahia, Brasil. **Sítientibus Série Ciências Biológicas**, v. 6, n.1, p. 24-29, jan./mar., 2006.
- NEVES, M. A. **Composição, riqueza e variação espaço-temporal de macrófitas aquáticas do lago do trevo – município de Boa Vista – RR**. Boa Vista, 2007. 128f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima.
- NOGUEIRA, F.; COUTO, E. G. Amostragem em planícies de inundação In: BICUDO, C. E. de M.; BICUDO, D.C. (Org.). **Amostragem em Limnologia**. São Paulo: RIMA, 2004. p.281-293.
- PANDIT, A.K. Role of macrophytes in aquatic ecosystems and management of water resources. **Journal of environmental Management**, Estados Unidos, v.18, n.1, p. 73-88, jan., 1984.
- PIEIDADE, M. T. F. et al. Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, n. 2, p. 165-178, 2010.
- PIRES, J. M. Tipos de Vegetação da Amazônia. **Brasil Florestal**, Brasília, v.5, n.17, p.48-58, jan./mar., 1974.
- PIVARI, M. O. et al. Macrófitas aquáticas da Lagoa Silvana, Vale do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **IHERINGIA - Série Botânica**, v. 63, n. 2, p. 321 – 327, jul./dez. 2008.
- POMPÊO, M. L.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Macrófitas aquáticas e perifíton: Aspectos ecológicos e metodológicos**. São Carlos: Rima, 2003. 124p.
- POTT, V.J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal**. 1ed. Brasília: Embrapa, 2000. 404p.
- PRANCE, G. T. Notes on the vegetation of Amazonia III. The terminology of Amazonian forest types subject to inundation. **Brittonia**, New York, v. 31, n. 1, p. 26 – 38, 1979.
- ROGERS, S. O.; BENDICH, A. J. Ex- traction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. In: GELVIN, S. B.; SCHILPE- ROORT, R. A. (Eds.) **Plant molecular biology manual**. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 1994.
- ROMANO, E. Extração de DNA de tecidos vegetais. In: BRASILEIRO, A. C. M.; CARNEIRO, V. T. C. (Ed.). **Manual de transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI - Embrapa-Cenargen, 1998. p. 163-189.

ROMANO, E.; BRASILEIRO, A. C. M. Extração de DNA de plantas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 9, p. 40 – 43, jul./ago., 1999.

ROSO, A. C.; VIDAL, R. A. Determinação de protocolo para extração de DNA da espécie daninha *Euphorbia heterophylla* L. (EPHHL). In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, XXVII, 2010, Ribeirão Preto, **Anais do XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Ribeirão Preto: SBCPD, 2010, p. 411-415.

ROSSETO, M.; WEAVER, P.K.; DIXON, K.W. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). **Molecular Ecology**, v.4, n.3, p.321-330, jun., 1995.

ROTTA, E.; BELTRAMI, L. C. C.; ZONTA, M. **Manual de prática de coleta e herborização de material botânico**. Colombo: Embrapa florestas, 2008. 31p.

SANTAMARÍA, L. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. **Acta Oecologica**, v. 23, n. 3, p. 137 – 154, jun., 2002.

SANTOS, F. R.; GUIMARÃES, P. E. M.; REDONDO, R. A. F. Bancos de DNA: Coleções estratégicas para uso da biodiversidade. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 3, n. 2, p. 93-98, 2002.

SANTOS, U. M.; SILVA, M. N. P. Rios da Bacia Amazônica II: Os afluentes do Rio Branco. **Acta Amazônica**, Manaus, v.15, n.1-2, p. 147–156, jan./jun., 1985.

SCREMIN-DIAS, E. O retorno à origem aquática. In: SCREMIN-DIAS, E.; POTT V. J.; HORA, R. C.; SOUZA, P. R. (Org.). **Nos jardins submersos de Bodoquena: guia para identificação de plantas aquáticas de Bonito e região**. Campo Grande: UFMS, 1999. p. 24-42.

SILVA, I. G. **Estrutura e funcionamento da comunidade fitoplanctônica em ambientes lacustres do estado de Roraima, Brasil**. 2008. 93f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

SILVA, M. L. et al. Avaliação de dois métodos de extração de DNA genômico em melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, jul., 2003. 1 CD-ROM.

SILVA, S. S. L. **Caracterização ecológica e estrutural de macrófitas em reservatórios no estado de Pernambuco**. 2011. 108f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

SIMÕES FILHO, F. et al. Registros sedimentares de lagos e brejos dos campos de Roraima: implicações paleoambientais ao longo do Holoceno. In: BARBOSA, R. I.; FERREIRA, E. J. G.; CASTELLÓN, E. G. **Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**. Manaus: INPA, 1997, p. 295-304.

SIOLI, H. **Amazônia: Fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais**. 2.ed. Petrópolis: Vozes, 1990. 72p.

SIOLI, H. **The Amazon: Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin**. Volume 56. Boston: DR W. JUNK PUBLISHERS, 1984. 763p.

SPELLMEIER, J.; PÉRICO, E.; FREITAS, E.M. 2009. Composição florística de um banhado no município de Estrela/Rio Grande do Sul. **Pesquisas: série Botânica**, n.60, p. 367-381.

STEFENON, V. M.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Genética e conservação de *Araucaria angustifolia*: III. Protocolo de extração de DNA e capacidade informativa de marcadores RAPD para análise da diversidade genética em populações naturais. **Biotemas**, Santa Catarina, v.17, n.1, p. 47 – 63, 2004.

TAJUJÁ, L. F. **Levantamento de macrófitas aquáticas no igarapé Caranã - Boa vista / Roraima**. 2010. 53f. Monografia (Graduação em bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Roraima.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: Eduem, 2003. 342p.

THOMAZ, D. O.; COSTA-NETO, S. V.; TOSTES, L. C. L. Inventário Florístico das Ressacas das Bacias do Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú. In: TAKIYAMA, L. R.; SILVA, A. Q. (Orgs.). **Diagnóstico das Ressacas do Estado do Amapá: Bacias do Igarapé da Fortaleza e Rio Curiaú**, Macapá: CPAQ/IEPA - DGEO/SEMA, 2003. p.1-22.

TREVELIN, L. C. et al. **Diversidade local de macrófitas aquáticas em águas brancas e pretas na Amazônia Central**. Disponível em: pdbff.inpa.gov.br/cursos/efa/livro/2007/pdf/varzea/va_po3g2.pdf. Acesso em: 13 de maio de 2012.

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL. Museu de Ciências Naturais. Áreas de atuação. Botânica. Herbários. **Saiba mais sobre os herbários**. Disponível em: <http://www.ucs.br/ucs/tplMuseu/museu/areadeatuacao/botanica/botanica/saibamaisobreherbarios>. Acesso em: 20 de abril de 2012.

WEISING, K. et al. **DNA fingerprinting in plants and fungi**. Flórida: CRC Press, 1995.

APÊNDICE

Apêndice A - Resultado das leituras das amostras no espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu).

Amostras	Absorbância		Razão
	260nm	280nm	
NCK1	-0,031	-0,077	0,4
TKS1	0,343	0,352	0,97
NM2	0,04	0,196	0,2
MS3	0,112	0,068	1,65
NC3	0,054	0,091	0,59
SM1	-0,063	0,121	-0,52
TKE1	0,084	0,053	1,58
NYC2	0,081	0,2	0,4
MA2	0,017	0,073	0,23
LC1	0,043	0,166	0,26
NV2	0,011	-0,216	-0,51
EC1	4	-0,033	-121,2
NCK2	0,039	0,079	0,5
NCK3	0,106	0,093	1,13
NCK5	0,027	0,056	0,48

Apêndice B – Algumas espécies encontradas nas grades do PPBio – RR e áreas adjacentes



Aeschynomene paniculata Willd. ex Vogel



Aniseia martinicensis (Jacq.) Choisy



Apalanthe granatensis (Bonpl.) Planch



Bacopa reflexa (Benth.) Edwall



Burmannia bicolor Mart.



Cabomba furcata Schult. & Schult. f.



Coutoubea reflexa Benth.



Cuphea antisiphilitica Kunth



Cyperus haspan L.



Duckea squarrosa (Willd. ex Link) Maguire



Echinodorus tenellus (Mart. ex Schult. & Schult. f.) Buchenau



Eichhornia Azurea (Sw.) Kunth



Eleocharis interstincta (Vahl) Roem & Schult.



Eleocharis minima Kunth



Eriocaulon tenuifolium Klotzsch ex Körn.



Fuirena umbellata Rottb.



Lindernia sp.



Lipocarpa salzmänniana Steud



Ludwigia leptocarpa (Nutt.) H. Hara



Ludwigia nervosa (Poir.) H. Hara



Ludwigia sedoides (Bonpl.) H. Hara



Mayaca fluviatilis Aubl.



Melochia pyramidata L.



Montrichardia arborescens (L.) Schott



Montrichardia linifera (Arruda) Schott



Nymphaea gardneriana Planch



Nymphaea lingulata Wiersema



Nymphaea rudgeana G. Mey.



Nymphoides indica (L.) Kuntze



Oxycaryum cubense (Poepp. & Kunth) Palla



Paepalanthus sp.



Perama hirsuta Aubl.



Rhynchanthera grandiflora (Aubl.) DC.



Rhynchospora barbata (Vahl) Kunth



Sagittaria guayanensis Kunth



Sagittaria rhombifolia Cham.



Salvinia auriculata Aubl.



Sauvagesia erecta L.



Schultesia guianensis (Aubl.) Malme



Sipanea pratensis Aubl.



Spathanthus unilateralis (Rudge) Desv.



Stylosanthes guianensis (Aubl.) Sw.



Tibouchina gracilis (Bonpl.) Cogn.



Utricularia breviscapa Wright ex Griseb.



Utricularia foliosa L.



Utricularia hispida Lam.

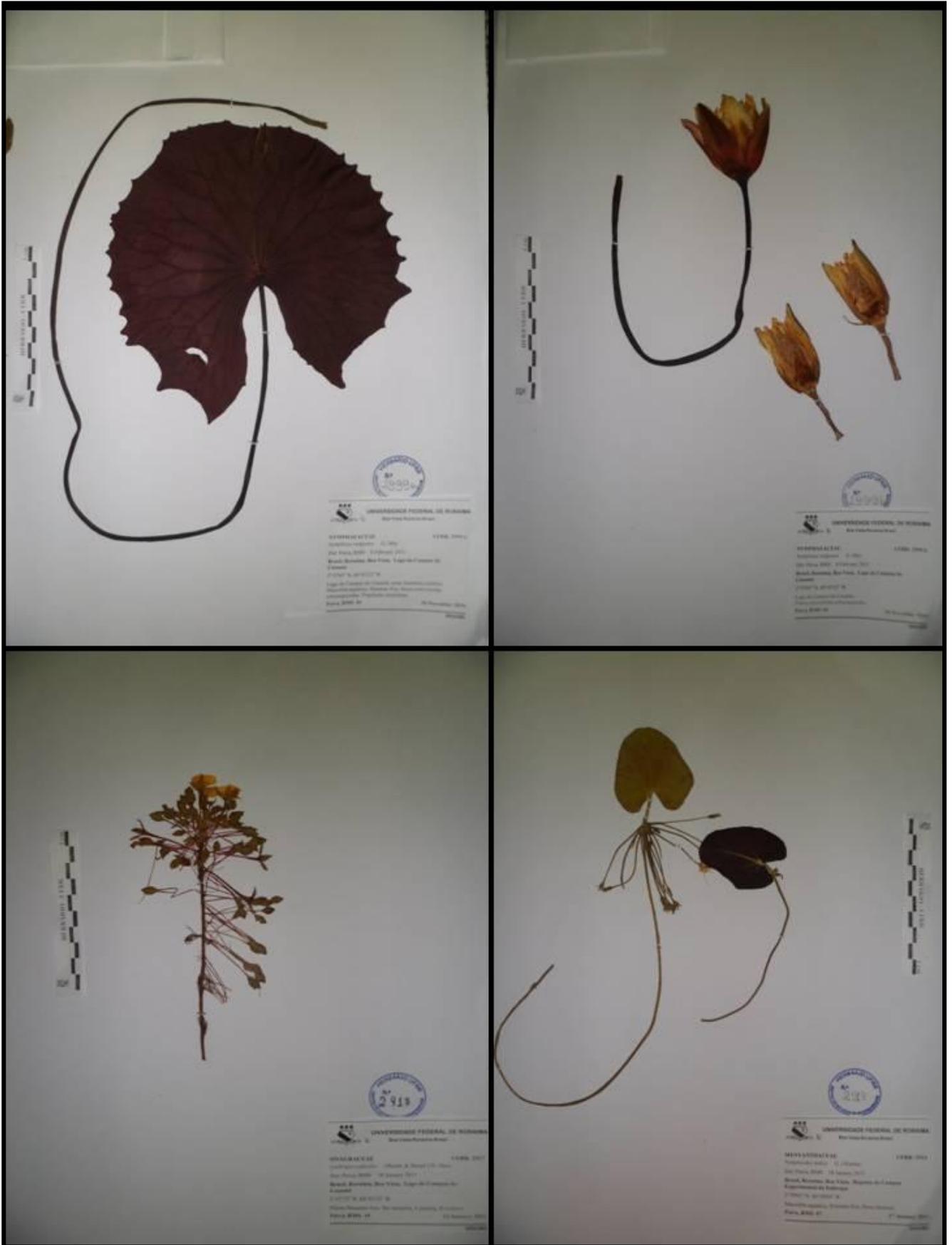


Utricularia myriocista A. St.-Hil. & Girard



Vigna juruana (Harms) Verde

Apêndice C – Exsicatas de algumas macrófitas que foram depositadas no Herbário - UFRR



ANEXOS

Anexo A - Manual do Kit Nucleon Phytopure Genomic DNA Extraction

Protocolo

O protocolo requer o uso de isopropanol frio, etanol 70% e clorofórmio armazenado a -20°C.

Quebrando a parede celular:

1. Adicionar três volumes de gelo seco (ou nitrogênio líquido se preferir) a 1,0g (peso seco) de tecido de planta que tenha sido congelada a -20°C;
2. Moer o tecido no gelo seco (ou nitrogênio líquido) para se obter um pó solto;
3. Transferir o pó, usando uma espátula refrigerada, para um tubo de centrifuga de polipropileno adequado;

Lise celular

4. Adicionar 4,6 ml do Reagente 1, assegurando que todos os ingredientes do reagente estejam completamente dissolvidos. (Incubações opcionais com mercaptoetanol e RNase devem ser realizados nesta fase);
5. Misturar bem com uma espátula;
6. Adicionar 1,5 ml do Reagente 2;
7. Inverta várias vezes até que uma mistura homogênea seja obtida;
8. Incubar a 65°C em banho-maria com agitação a cada 10 minutos;
9. Coloque a amostra no gelo durante 20 minutos;

Extração de DNA

10. Remova a amostra do gelo e adicione 2 ml do clorofórmio que foi armazenado a -20°C;
11. Adicionar 200 µl de Nucleon Phytopure suspensão de resina para extração de DNA;
12. Agitar em um agitador de inclinação durante 10 minutos à temperatura ambiente;

13. Centrifugar a 1300 g durante 10 minutos;
14. Sem perturbar a camada da resina de suspensão, transfira (usando uma pipeta) o DNA contido na fase superior, acima da camada de resina castanha, para um novo tubo;

Precipitação do DNA

15. Adicionar um volume igual de isopropanol;
16. Inverta suavemente o tubo até que o DNA precipite;
17. Centrifugar no mínimo a 4000 g durante 5 minutos até a formação do *pellet* de DNA;
18. Lavar o pellet de DNA com etanol 70% frio;
19. Centrifugar no mínimo a 4000 g durante 5 minutos até a formação do *pellet* de DNA;
20. Descartar o sobrenadante;
21. Deixar secar durante durante 10 minutos o *pellet* de DNA. Remova qualquer gota de etanol remanescente do tubo;
22. Resuspender o DNA em água tampão como exigido;