



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL EM
VARIEDADES BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa*
GOMES (*Apocynaceae*): ESTRATÉGIAS PARA
CONSERVAÇÃO NO CERRADO**

EDUARDO BORGES RODRIGUES

Orientadora:
Dr.^a Mariana Pires de Campos Telles

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Eduardo Borges Rodrigues

Título do trabalho: VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL EM VARIEDADES BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa* GOMES (*Apocynaceae*): ESTRATÉGIAS PARA CONSERVAÇÃO NO CERRADO

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Eduardo Borges Rodrigues
Assinatura do(a) autor(a)²

Data: 11/04/2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à Coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

² A assinatura deve ser escaneada.

EDUARDO BORGES RODRIGUES

**VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL EM VARIEDADES
BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa* GOMES (*Apocynaceae*):
ESTRATÉGIAS PARA CONSERVAÇÃO NO CERRADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientadora:

Dr^a. Mariana Pires de Campos Telles

Coorientadora:

Dr^a. Rosane Garcia Collevatti

Goiânia, GO – Brasil

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Borges Rodrigues, Eduardo
VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL EM VARIEDADES
BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa* GOMES (Apocynaceae):
ESTRATÉGIAS PARA CONSERVAÇÃO NO CERRADO [manuscrito] /
Eduardo Borges Rodrigues. - 2015.
135 f.

Orientador: Profa. Dra. Mariana Pires de Campos Telles; co orientadora Dra. Rosane Garcia Collevatti.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Genética & Melhoramentos de Plantas, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Apêndice.

Inclui mapas, fotografias, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. diversidade. 2. estrutura genética. 3. variedades botânicas. 4. conservação in situ e ex situ. I. Pires de Campos Telles, Mariana, orient. II. Título.

CDU 575



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE EDUARDO BORGES RODRIGUES. Aos onze dias do mês de Dezembro do ano de dois mil e quinze (11.12.2015), às 08h00min, no Auditório do Centro de Excelência em Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar, da Escola de Agronomia, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora, Prof^ª. Dr^ª. Mariana Pires de Campos Telles – Presidente/Orientadora; Dr^ª. Bianca Waleria Bertoni; Dr^ª. Luciane Madureira de Almeida; Dr^ª. Carolina Ribeiro Diniz Boaventura Novaes; Prof. Dr. Lázaro José Chaves. Sob a presidência da orientadora, e em sessão pública, procedeu-se à avaliação da defesa da tese intitulada: “**VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL EM VARIEDADE BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa* GOMES (*Apocynaceae*): ESTRATÉGIAS PARA CONSERVAÇÃO NO CERRADO**”, de autoria de **Eduardo Borges Rodrigues**, discente do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, no nível de Doutorado, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Prof^ª. Dr^ª. Mariana Pires de Campos Telles, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor da Tese que, em 40 minutos, apresentou o seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca argüiu o doutorando, tendo-se adotado o sistema de diálogo seqüencial. Ao final, a banca reunida em separado procedeu à avaliação da defesa. O título da dissertação foi alterado para

”

De acordo com a Resolução nº 1053/2011, do CEPEC - Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura, que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, e desde que procedidas às correções recomendadas, a tese será considerada aprovado pela Banca Examinadora, estando integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de DOUTOR EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, pela Universidade Federal de Goiás. O doutorando deverá efetuar as modificações eventualmente sugeridas pela Banca Examinadora e encaminhar a versão definitiva da tese à Secretaria do PGMP, no prazo máximo de trinta dias após a data da Defesa. A conclusão do Curso e a emissão do Diploma dar-se-ão após o cumprimento do Artigo 52 da Resolução CEPEC nº 1053/2011. A Banca Examinadora recomenda a publicação de artigo(s) científico(s), oriundo(s) dessa tese, em periódicos de circulação nacional e, ou, internacional, depois de procedidas as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades de pauta, às _____. A presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Tese e, para constar eu, Jéssica Almeida, secretária PGMP, lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, segue assinada pelos membros da Banca Examinadora, em duas vias de igual teor.

Prof^ª. Dr^ª. Mariana Pires de Campos Telles
Presidente/Orientadora

Dr^ª. Bianca Waleria Bertoni
Membro Externo

Dr^ª. Luciane Madureira de Almeida
Membro Externo

Dr^ª. Carolina R. D. Boaventura Novaes
Membro Interno

Prof. Dr. Lázaro José Chaves
Membro Interno

Á Deus, supremo Senhor e Pai, pela
inteligência e direção a mim concedidos
na realização deste trabalho,

DEDICO

À Mariana Pires de Campos Telles, pela
orientação, ensinamentos e apoio durante
todo o doutorado. Pelo exemplo que é e pela
preciosa amizade,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho. Em especial eu destaco:

Às instituições financiadoras, que viabilizaram o desenvolvimento deste trabalho. Mais especificamente agradeço à FAPEG pelo auxílio financeiro, chamada 012/2012. Ao CNPQ pela concessão de verbas para os projetos 564717/2010-0, 563727/2010-1 e 563624/2010-8. À Rede Cerrado CNPq/PPBio (projeto nº 457406/2012-7). E finalmente, à CAPES por conceder a bolsa de doutorado.

Ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. A todos os professores que estão realmente envolvidos no crescimento e na qualidade científica do Programa, muito obrigado pelos ensinamentos, exemplo e dedicação.

À minha orientadora, professora Dra. Mariana Pires de Campos Telles, pelos ricos ensinamentos, mas principalmente, pela confiança na minha capacidade até mesmo em momentos em que nem mesmo eu acreditava. Muito obrigado, por me ajudar a enxergar o trabalho científico com outros olhos!

À minha co-orientadora, professora Dra. Rosane Garcia Collevatti, pelos ricos ensinamentos nas aulas, no campo, pelas discussões e sugestões e também pela amizade e confiança. Sua inteligência me inspira e me faz ter vontade de estudar cada vez mais.

Aos Professores Dr. Alexandre Siqueira Guedes Coelho, Dra. Thannya Nascimento Soares e Dra. Patrícia Melo Guimarães, os quais fizeram parte da minha banca de qualificação, pelos conselhos, pelo apoio. Obrigada por tudo!

À Banca Examinadora, por terem aceitado o convite e pelas valiosas contribuições.

Ao professor Dr. José Alexandre Felizola Diniz Filho pela preciosa ajuda nas análises do capítulo três deste trabalho, e pelo exemplo de professor e pesquisador.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Genética & Biodiversidade pela amizade, companheirismo, auxílio nos experimentos, resumos, análises de dados e também pelos momentos de descontração compartilhados ao longo desses dois anos. Agradeço imensamente aos colegas Edivaldo Barbosa e Ramilla Braga pela amizade por toda a vida e ajuda na discussão dos resultados e na análise de dados.

Aos meus amados pais por todo amor e carinho, por todos os ensinamentos durante minha vida, pelo apoio incondicional, e pelo esforço que fizeram para que eu sempre alcançasse meus objetivos.

A todos o meu muito obrigado! Vocês fazem parte deste sonho realizado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMO GERAL.....	11
GENERAL ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 A MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).....	16
2.1.1 Ocorrência e descrição da planta.....	16
2.1.2 Aspectos econômicos e implicações para conservação.....	20
2.2 DIVERSIDADE GENÉTICA.....	22
2.3 ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES.....	24
2.4 CONSERVAÇÃO <i>in situ</i> E <i>ex situ</i>	27
3 Capítulo 1: DIVERSIDADE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE VARIEDADES BOTÂNICAS DE <i>Hancornia speciosa</i> (APOCYNACEAE)	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
3.1 INTRODUÇÃO.....	32
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.2.1 Área de coleta e material amostrado.....	34
3.2.2 Amostragem genética.....	35
3.2.3 Variabilidade genética das variedades botânicas.....	37
3.2.4 Divergência genética entre variedades botânicas.....	38
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.3.1 Diversidade alélica dos locos microssatélites.....	39
3.3.2 Diversidade genética populacional.....	49
3.3.3 Divergência genética entre variedades botânicas.....	53
3.4 CONCLUSÕES.....	61
4 Capítulo 2: ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL E PADRÃO ESPACIAL EM <i>Hancornia speciosa</i> (APOCYNACEAE).....	62
RESUMO.....	62
ABSTRACT.....	63
4.1 INTRODUÇÃO.....	64
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	67
4.2.1 Áreas amostradas.....	67
4.2.2 Amostragem genética.....	67
4.2.3 Diversidade e estrutura genética das populações.....	69
4.2.4 Padrão espacial da estrutura genética.....	70
4.2.5 Descontinuidades genéticas.....	71
4.2.6 Detecção de sinais de gargalo genético.....	71
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
4.3.1 Diversidade genética e estrutura populacional.....	72
4.3.2 Padrão espacial da variabilidade genética.....	75
4.3.3 Descontinuidades genéticas.....	78
4.3.4 Detecção de sinais de gargalo genético.....	79

4.4	CONCLUSÕES.....	81
5	Capítulo 3: ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO <i>IN SITU</i> E <i>EX SITU</i> DE <i>Hancornia speciosa</i> (APOCYNACEAE)	82
	RESUMO.....	82
	ABSTRACT.....	83
5.1	INTRODUÇÃO.....	84
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	86
5.2.1	Área de estudo e amostragem para proposta de conservação <i>in situ</i>	86
5.2.2	Área de estudo e amostragem para proposta de conservação <i>ex situ</i>	87
5.2.3	Amostragem genética.....	88
5.2.4	Seleção de áreas prioritárias para conservação <i>in situ</i>	89
5.2.5	Complementaridade da coleção de germoplasma da EA/UFG, uma estratégia de conservação <i>ex situ</i>	91
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
5.3.1	Seleção de áreas prioritárias para conservação <i>in situ</i>	91
5.3.2	Complementaridade da coleção de germoplasma da EA/UFG, uma estratégia de conservação <i>ex situ</i>	95
5.4	CONCLUSÕES.....	98
6	CONCLUSÕES GERAIS.....	100
7	REFERÊNCIAS.....	102
	APÊNDICES.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Localização geográfica de vinte e oito populações de <i>Hancornia speciosa</i> distribuídas ao longo Cerrado, com respectivos códigos, variedade, tamanho amostral, latitude e longitude.....	35
Tabela 3.2	Relação dos pares de iniciadores de regiões microssatélites utilizados e suas características. M: motivo de repetição da região microssatélites; AVA: refere-se à variação da amplitude alélica de cada loco microssatélites; TA: é a temperatura de anelamento do iniciador; F: fluorocromo utilizado no iniciador.....	36
Tabela 3.3	Esquema de Análise de Variância Molecular (AMOVA).....	38
Tabela 3.4	Classificação do número de alelos de acordo com sua frequência entre amostras de <i>Hancornia speciosa</i> considerando sete locos microssatélites.....	47
Tabela 3.5	Alelos privados por população de <i>Hancornia speciosa</i> e frequência com que ocorrem.....	48
Tabela 3.6	Caracterização genética de 28 populações de <i>Hancornia speciosa</i> baseados em sete locos microssatélites.....	52
Tabela 3.7	Correlações lineares, com r de Pearson, entre parâmetros genéticos (H_o , H_e , Ar e f) de vinte e oito populações de <i>Hancornia speciosa</i> do Cerrado com a Latitude e a Longitude.....	53
Tabela 3.8	Análise de variância molecular (AMOVA) para 777 indivíduos de populações naturais de <i>Hancornia speciosa</i> com dados de 7 locos microssatélites. Os indivíduos foram avaliados quanto à variedade botânica as quais pertencem (var. <i>pubescens</i> ; var. <i>gardnerii</i> ; var. <i>speciosa</i> ; var. <i>cuyabensis</i>).....	54
Tabela 3.9	Análises de variância molecular comparativa das quatro variedades botânicas de <i>Hancornia speciosa</i> e do agrupamento gerado pela inferência Bayesiana.....	56
Tabela 4.1	Populações naturais de <i>Hancornia speciosa</i> amostradas para análise estrutura genética populacional.....	67
Tabela 4.2	Diversidade Genética de Nei (1973) em 24 populações de <i>Hancornia speciosa</i> , para sete locos microssatélites.....	72
Tabela 4.3	Análise de variância de frequências alélicas, segundo Weir & Cockerham (1984), em 24 populações de <i>Hancornia speciosa</i> , para sete locos microssatélites.....	73
Tabela 4.4	Teste de Wilcoxon para detecção de gargalo genético em vinte e quatro	

	populações <i>Hancornia speciosa</i> , utilizando teste de Wilcoxon sob três modelos mutacionais: modelo de infinitos alelos (I.A.M.), modelo de mutação <i>stepwise</i> (S.M.M.), modelo mutacional <i>two-phase</i> (T.P.M.) com proporção de 70% para S.M.M.....	80
Tabela 5.1	Relação das vinte e cinco populações de <i>Hancornia speciosa</i> distribuídas ao longo Cerrado, com respectivos códigos, proporção de remanescentes ao redor e distâncias em linha reta até Goiânia-GO.....	87
Tabela 5.2	Populações prioritárias de <i>Hancornia speciosa</i> para conservação <i>in situ</i>	94

LISTAS DE FIGURAS

Figura 2.1	Mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i>): Flores em A; Frutos em B e D; Ramos com frutos em C; Sementes em E.....	17
Figura 3.1	Pontos de coleta das 28 populações de <i>Hancornia speciosa</i> no Cerrado brasileiro para análise de diversidade e estruturação genética. Os círculos verdes correspondem as populações de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> , os círculos roxos correspondem as populações de <i>H. speciosa</i> var. <i>speciosa</i> ; os círculos vermelhos correspondem as populações de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardinerii</i> ; os círculos azuis correspondem as populações de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> . Quatro populações MUTGO, JARGO, COCMT e FANGO, apresentam as variedades <i>pubescens</i> e <i>gardinerii</i> em simpatria.....	34
Figura 3.2	Frequências alélicas dos sete locos microssatélites analisados por variedade botânica, estimados para 777 indivíduos de <i>Hancornia speciosa</i> oriundos de 28 populações naturais.....	42
Figura 3.3	Número de alelos de cada um dos locos microssatélites analisados, estimados para 777 indivíduos de quatro diferentes variedades botânicas de <i>Hancornia speciosa</i>	46
Figura 3.4	Número de alelos privados por variedades botânica de um total de 157 alelos de sete locos microssatélites em 28 populações de <i>Hancornia speciosa</i>	48
Figura 3.5	Valores de ΔK para o número de populações (K) mais verossímil. Dois é o número de populações mais provável	57
Figura 3.6	Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para 28 populações de <i>Hancornia speciosa</i> G. do Cerrado brasileiro utilizando marcadores microssatélites.....	58
Figura 3.7	Atribuição de grupos genéticos para indivíduos de vinte e oito populações de <i>Hancornia speciosa</i> do Cerrado, com base na estatística Bayesiana. Cada linha vertical indica um indivíduo e as cores são os coeficientes de coancestria para cada grupo.....	60
Figura 4.1	Relação entre as distâncias genéticas (F_{ST} par-a-par) e as distâncias geográficas entre 24 populações de <i>Hancornia speciosa</i> . A correlação matricial ($r = 0,325$; $p = 0,005$) foi significativa, segundo teste de Mantel utilizando-se 10.000 permutações.....	76
Figura 4.2	Correlograma de Mantel (sete classes de distância) e os respectivos valores de r (correlação de Pearson) para cada classe.....	77
Figura 4.3	Correlograma médio dos valores I de Moran, obtido a partir da autocorrelação espacial das frequências alélicas de <i>Hancornia speciosa</i> , calculada com 10.000 permutações.....	78

Figura 4.4	Descontinuidade genética de acordo com o algoritmo de Monmonier, destacado pela seta em vermelho, plotada na rede de Gabriel a partir do resultado encontrado na PCoA com os valores de F_{ST} par a par entre as 24 populações de <i>Hancornia speciosa</i>	79
Figura 5.1	Mapa das localidades coletadas para proposta de conservação <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	86
Figura 5.2	Coleção de frutíferas nativas do Cerrado da EA/UFG, demonstrando a disposição da coleção de <i>H. speciosa</i> e distribuição das plantas por variedade.....	88
Figura 5.3	Frequência com que cada uma das 24 populações de <i>Hanconia speciosa</i> aparece nas 69 soluções (IRR).....	92
Figura 5.4	Mapa de populações prioritárias para conservação <i>in situ</i> de <i>Hancornia speciosa</i> baseada da insubstituibilidade.....	92
Figura 5.5	Mapa de populações prioritárias para conservação <i>in situ</i> de <i>Hancornia speciosa</i> baseada na máxima porcentagem de remanescentes.....	93
Figura 5.6	Frequência com que cada uma das 24 populações de <i>Hanconia speciosa</i> aparece nas 69 soluções (IRR).....	95
Figura 5.7	Mapa de populações prioritárias para complementaridade da coleção de germoplasma de <i>Hancornia speciosa</i> baseada da insubstituibilidade.....	96
Figura 5.8	Mapa de populações prioritárias para complementaridade da coleção de germoplasma de <i>Hancornia speciosa</i> baseada na menor distância até Goiânia.....	96

RESUMO GERAL

RODRIGUES, E. B. **Variabilidade genética populacional em variedades botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*): estratégias para conservação no Cerrado.** 2015. 135f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

Devido à constante degradação, as populações de plantas no Cerrado podem estar perdendo variabilidade genética, com isso, a permanência delas em seu habitat natural pode ser comprometida. Visando gerar informações genéticas úteis para a implantação de programas de conservação *in situ* e *ex situ* para *Hancornia speciosa* Gomes (mangabeira), este trabalho teve como objetivo geral avaliar a estrutura genética nas populações de *H. speciosa* com ocorrência no Cerrado, contribuindo para o conhecimento dos padrões genéticos e espaciais relacionados à distribuição geográfica e diferenciação genética entre as variedades botânicas. No primeiro capítulo foi avaliada a magnitude dos níveis de diversidade genética de quatro variedades botânicas da espécie, e ainda, a divergência genética entre elas. Como resultado, foi observado que existe elevada variabilidade genética ($H_e = 0,636$), nos locos avaliados. Os valores médios de diversidade genética, heterozigotidade observada, coeficiente de endogamia intrapopulacional e riqueza alélica não foram significativos, demonstrando que não há diferença desses parâmetros genéticos quando comparadas as variedades botânicas de *H. speciosa*. E apesar da variação entre variedades ser significativa ($F_{CT} = 0,027$; $p = 0,017$) a maior diferenciação está entre populações dentro de variedades ($F_{SC} = 0,104$; $p < 0,001$) e em populações independentes das variedades ($F_{ST} = 0,131$; $p < 0,001$). A variedade *H. speciosa* var. *speciosa* se apresenta com a variedade botânica geneticamente mais divergente, seguida da variedade *H. speciosa* var. *cuyabensis*. A plasticidade fenotípica pode estar contribuindo para diferenciação entre as variedades botânicas. No segundo capítulo, foi avaliada a variabilidade genética dentro e entre populações de *H. speciosa* em todo Cerrado brasileiro, bem como, se existe padrão espacial da variabilidade genética em uma escala regional, ao longo da área de distribuição geográfica da espécie. Como resultado, foi observado que as populações possuem alta variabilidade genética e endogamia significativa ($f = 0,103$), devido os cruzamentos entre indivíduos aparentados. A diferenciação genética entre as populações foi de moderada a alta, porém significativa ($\theta = 0,126$; $R_{ST} = 0,253$). A diferenciação das populações ocorreu em decorrência do isolamento por distância. As populações com distância de até 280m foram mais semelhantes que o esperado ao acaso. Houve sinais significativos de gargalo genético para algumas populações naturais de mangabeira. No terceiro capítulo, foi demonstrado como procedimentos de planejamento de conservação podem ser utilizados para estabelecer estratégias ótimas de conservação *in situ* e *ex situ* de uma única espécie, utilizando *H. speciosa*, uma espécie amplamente distribuída no Cerrado brasileiro, como um estudo de caso. Nove populações foram selecionadas como prioritárias para conservação *in situ* e outras sete foram consideradas ideais para complementar a variabilidade genética da coleção de germoplasma da Universidade Federal de Goiás.

Palavras-chave: Diversidade, estrutura genética, variedades botânicas, conservação *in situ* e *ex situ*

GENERAL ABSTRACT

RODRIGUES, E. B. **Variability in population genetic's botanical varieties of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae): strategies for conservation in the Cerrado.** 2015. 135f. Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

Due to constant degradation, populations of plants in the Cerrado may be losing genetic variability, thereby them to stay in their natural habitat may be compromised. Aiming to generate useful genetic information for the implementation of conservation programs *in situ* and *ex situ* to *Hancornia speciosa* Gomes (mangabeira), this study aimed to evaluate the genetic structure of populations in *H. speciosa* occurring in the Cerrado, contributing to the knowledge genetic and spatial patterns related to geographic distribution and genetic differentiation between botanical varieties. In the first chapter it evaluated the magnitude of genetic diversity levels four botanical varieties of the species, and also the genetic divergence between them. As a result, it was observed that there is a high genetic diversity ($H_e = 0.636$), the assessed loci. The average values of genetic diversity observed heterozygosity, inbreeding coefficient intrapopulation and allelic richness were not significant, showing that there is no difference of these genetic parameters compared the botanical varieties of *H. speciosa*. And despite the variation between varieties to be significant ($F_{CT} = 0.027$; $p = 0.017$) greater differentiation is between populations within varieties ($F_{SC} = 0.104$; $p < 0.001$) and in independent populations of varieties ($F_{ST} = 0.131$; $p < 0.001$). The variety *H. speciosa* var. *speciosa* presents with the botanical variety genetically most divergent, then the variety *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Phenotypic plasticity may be contributing to differentiate between botanical varieties. In the second chapter, the genetic variability within and among populations of *H. speciosa* throughout the Brazilian Cerrado was evaluated and, if there is spatial pattern of genetic variability on a regional scale, along the geographical distribution of the species. As a result, it was observed that populations have high genetic variability and significant inbreeding ($f = 0.103$) due crosses between unrelated individuals. The genetic differentiation between populations was moderate to high, but significant ($\theta = 0.126$; $R_{ST} = 0.253$). The differentiation of populations occurred as a result of isolation by distance. Populations with distance up to 280m were more similar than expected by chance. There were significant signs of genetic bottleneck for some natural populations of mangabeira. In the third chapter, it was shown as conservation planning procedures can be used to establish optimal strategies of conservation *in situ* and *ex situ* of a single species, using *H. speciosa*, a species widely distributed in the Brazilian Cerrado, as a case study. Nine populations were selected as priorities for conservation *in situ* and another seven were considered ideals in addition to the genetic variability of the germplasm collection of the Universidade Federal de Goiás.

Keywords: diversity, genetic structure, botanical varieties, conservation *in situ* and *ex situ*

1. INTRODUÇÃO

Os habitats naturais estão passando por constantes alterações, em decorrência principalmente de fatores climáticos e ações antropogênicas. A perda de habitat e a sua fragmentação podem causar redução da diversidade genética, alterar o modo de reprodução das espécies e aumentar as diferenças genéticas entre as populações remanescentes (Lowe et al., 2005; Aguilar et al., 2008). Isto ocorre pelo fato de existir forte interação entre as características da paisagem e os processos microevolutivos responsáveis pela manutenção da variabilidade (Manel et al., 2003; McRae & Beier, 2007). Assim, manter a variabilidade genética é de fundamental importância, pois ela é a base para a evolução e adaptação das espécies aos variados tipos de habitats e às alterações climáticas, além de ser a base para programas de melhoramento genético.

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando 23% do território nacional com uma área aproximada de dois milhões de quilômetros quadrados e ocorrência predominante no planalto central (Felfili et al., 2004). Sua diversidade de paisagens determina uma grande diversidade florística, fazendo com que sua flora seja considerada a mais rica dentre as savanas do mundo (Felfili et al., 2004). O conhecimento sobre esse bioma vem sendo acumulado, mas não na velocidade em que ele desaparece. E assim, a falta de ordenamento na ocupação da paisagem e no uso dos recursos naturais poderão trazer conseqüências desastrosas à composição da biodiversidade, à ciclagem de nutrientes e ao fluxo das águas, comprometendo a qualidade de vida das populações e a sustentabilidade das atividades da região (Scariot et al., 2005).

Dentro da grande diversidade vegetal, as espécies frutíferas do Cerrado destacam-se pelo seu elevado valor econômico e social. Muitas dessas frutas são importantes fontes de alimento e de sustento para as populações de baixa renda em várias

partes do país (Silva-Junior, 2004). Várias dessas espécies frutíferas estão ameaçadas e, portanto, merecem lugar de destaque em estudos de conservação e manejo sustentável.

A maioria das espécies frutíferas nativas do Cerrado encontra-se em estado selvagem, e apresentam enorme variabilidade genética em diversos caracteres (Chaves, 2002). Apesar de sua grande importância como alternativa econômica para o aproveitamento sustentado da região, poucas informações estão disponíveis sobre estas espécies e, além disso, muitas delas apresentam forte tendência ao desaparecimento, devido à exploração irracional do ecossistema em que ocorrem (Almeida & Sano, 1998). Myers et al. (2000) acreditam que a presença destas espécies, muitas endêmicas, em um ecossistema altamente ameaçado como o Cerrado, reforça a necessidade de estudos para sua conservação em particular, bem como do bioma como um todo.

As plantas demonstram uma surpreendente diversidade de morfologia, adaptação e ecologia, produto de milhões de anos de divergência e diversificação entre e dentro de populações (Schaal et al., 1998). A variação genética é um componente fundamental da diversidade biológica. Caracterizar essa variação genética e conhecer os mecanismos através do qual ela surgiu é o objetivo da genética de populações (Avice, 1998).

A distribuição da variação genética entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma espécie pode ser denominada de estrutura genética de populações (Brown, 1978). Em plantas ela é fortemente influenciada pelo fluxo gênico dentro e entre populações. A distribuição dessa variação dentro de uma população é formada por processos que são exteriores à espécie, tais como os eventos ecológicos, além dos fatores intrínsecos, tais como o sistema reprodutivo (Schaal et al., 1998). Desse modo, fatores relacionados à reprodução das espécies e à sua história de vida podem afetar profundamente a natureza dos padrões de fluxo gênico e, conseqüentemente, da estrutura genética das populações (Schaal et al., 1998; Caicedo & Schaal, 2004).

Os estudos sobre a variabilidade genética das espécies frutíferas nativas do Cerrado, em especial as frutíferas, são sempre importantes. Além de contribuir para o aumento do conhecimento sobre este bioma, tais estudos fornecem suporte para seu manejo e conservação, permitindo antever uma boa possibilidade de melhoramento pela

exploração, via seleção, da variabilidade natural (Hamrick & Murawski, 1990). Neste contexto, a espécie *Hancornia speciosa* Gomes (Managabeira) torna-se um modelo interessante para investigar a influência dos processos genético-populacionais na determinação das variedades botânicas atualmente reconhecidas para a espécie.

Em decorrência das informações moleculares complementarem as informações ecológicas, morfológicas e agrônômicas dos recursos genéticos, este trabalho teve por objetivo geral avaliar a estrutura genética nas populações de *Hancornia speciosa* Gomes (mangabeira) com ocorrência no Cerrado, contribuindo para o conhecimento dos padrões genéticos e espaciais relacionados à distribuição geográfica e diferenciação genética entre as variedades botânicas.

Para tanto, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- i. Estimar os níveis de diversidade genética dentro de cada variedade botânica da espécie *H. speciosa*;
- ii. Avaliar a divergência genética entre as variedades botânicas da espécie *H. speciosa*;
- iii. Avaliar a diferenciação genética entre subpopulações da espécie *H. speciosa*;
- iv. Analisar o padrão espacial da variabilidade genética entre populações de *H. speciosa* (escala regional);
- v. Identificar possíveis discontinuidades genéticas ao longo da distribuição geográfica e gradientes latitudinais na variabilidade genética da espécie;
- vi. Estabelecer subpopulações prioritárias para a conservação *in situ*;
- vii. Propor estratégias para complementar à variabilidade genética preservada na coleção de germoplasma de *H. speciosa* da Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)

2.1.1 Ocorrência e descrição da planta

A *Hancornia speciosa* Gomes (Figura 2.1), popularmente conhecida por mangabeira, pertence à família *Apocynaceae* encontrada naturalmente no Brasil (Lorenzi, 2002). Segundo Silva-Junior (2004), sua distribuição ocorre nas regiões Centro-Oeste, Sudeste, Norte e Nordeste, como abundância nas áreas de tabuleiros e baixadas litorâneas do Nordeste e no Cerrado. No Brasil, os principais centros de diversidade genética associados à mangabeira são, segundo Giacometti (1992): a Costa Atlântica e Baixo Amazonas (principalmente Pará e Amapá), o Nordeste (Caatinga, sobretudo as áreas de tabuleiros de savanas e zonas de transição Caatinga-Cerrado), Brasil Central (Cerrado), Mata Atlântica (nas áreas de cerrados litorâneos e restingas dos setores) e Bahia/Espírito Santo/ Vale do Rio Doce (do litoral de Sergipe ao Espírito Santo). Fora do Brasil, essa fruteira é praticamente desconhecida e sua presença é registrada apenas na Bolívia, Paraguai e, possivelmente, no Charco da Argentina (Silva et al., 2008).

De acordo com Monachino (1945), são aceitas seis variedades botânicas de mangabeira que se diferenciam por algumas características morfológicas, principalmente relacionadas às folhas e à flor: *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes (ou simplesmente *H. speciosa* Gomes), *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC., *H. speciosa* var. *cuyabensis* Malme, *H. speciosa* var. *lundii* A. DC., *H. speciosa* var. *gardineri* (A. DC.) Muell. Arg. e *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. Et Martius) Muell. Arg. A seguir serão apresentadas algumas características de cada variedade botânica:

1. *Hancornia speciosa* var. *speciosa* apresenta pecíolo de 9 mm a 15 mm de comprimento; limbo com cerca de 6 cm de comprimento e 2 cm de largura; glabra; pedicelos glabros; cálice glabro ou raramente pubescente externamente;

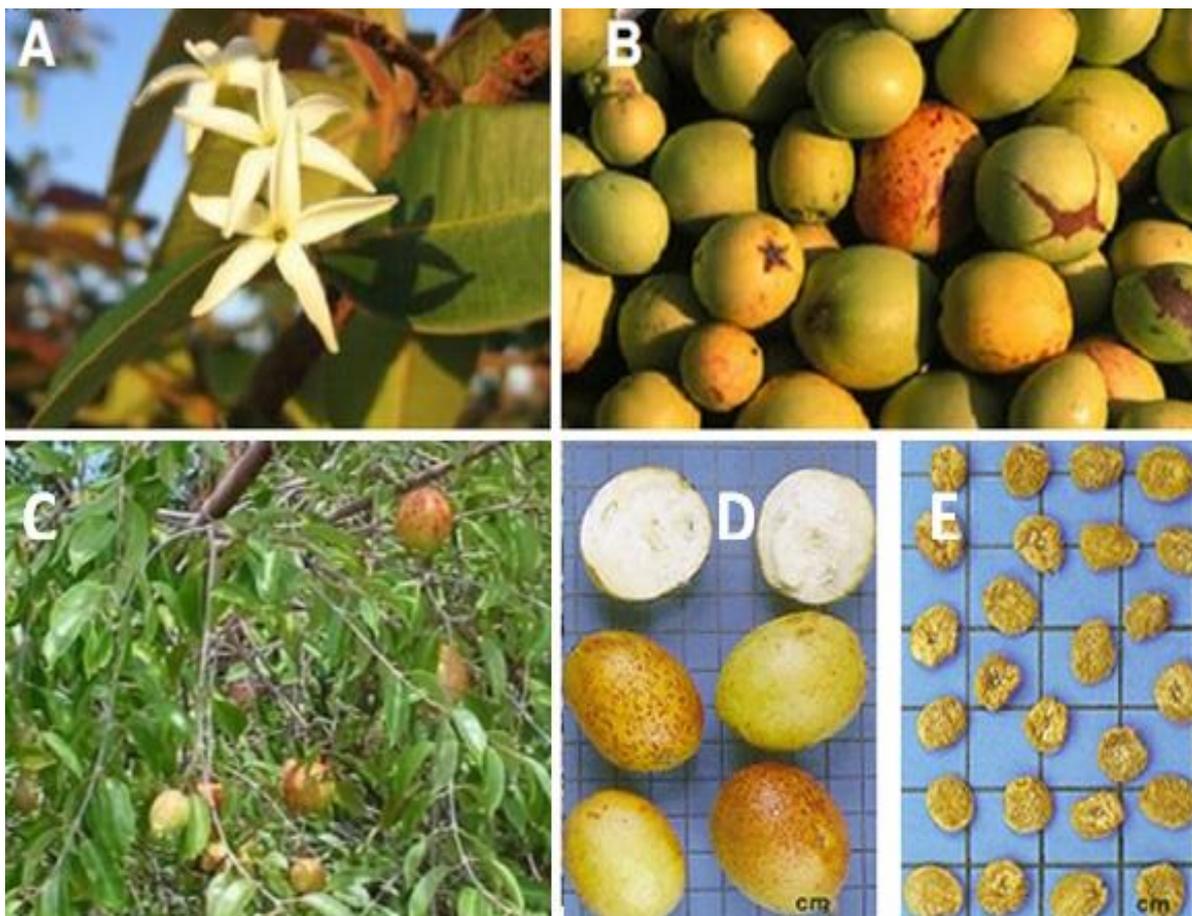


Figura 2.1 Mangabeira (*Hancornia speciosa*): Flores em A; Frutos em B e D; Ramos com frutos em C; Sementes em E. FONTE: Costa (2013)

2. *Hancornia speciosa* var. *maximiliani*: limbo com comprimento e largura um pouco menor eo pecíolo um pouco mais curto do que a variedade típica; pecíolo com cerca de 8 mm de comprimento; limbo de 5 cm a 6 cm de comprimento e 2,0 cm a 2,5 cm de largura;
3. *Hancornia speciosa* var. *cuyabensis*: pecíolo com cerca de 3 mm de comprimento; limbo de 4 cm a 10 cm de comprimento e 1,5 cm a 3,0 cm de largura; cálice glabro externamente; corola grande, glabra externamente;
4. *Hancornia speciosa* var. *lundii*: pecíolo com 3 mm a 5 mm de comprimento; limbo com 5 cm a 7 cm de comprimento e 3 cm de largura; pedicelos pubescentes; cálice cerdoso-pubescente externamente; corola com lóbulos pubescentes externamente;
5. *Hancornia speciosa* var. *gardnerii*: pecíolo curto como a variedade *lundii*; limbo com 7 cm a 10 cm de comprimento e cerca de 4 cm de largura, glabro na face dorsal ou pubescente na parte inferior da nervura central;

6. *Hancornia speciosa* var. *pubescens*: ramos densamente pubescentes; pecíolo curto como nas variedades *gardneri* e *lundii*, pubescente; limbo pubescente na parte inferior, com 6 cm a 12 cm de comprimento e 3 cm a 6 cm de largura; corola maior com lóbulos cerdoso- pubescentes, tubo pubescente externamente.

Rizzo & Ferreira (1990) realizaram um estudo de ocorrência de variantes de mangabeira no estado de Goiás, incluindo o atual estado do Tocantins. Com base em caracteres morfológicos, os autores relatam a existência de três variedades botânicas da espécie *H. speciosa*, quais sejam, *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *gardnerii*.

A existência de variedades botanicamente diferenciadas pressupõe uma história evolutiva com restrição ao fluxo gênico por um longo período de tempo (Coelho & Valva, 2001). No caso da diferenciação entre a variedade *speciosa* e as duas outras, *H. speciosa* var. *gardnerii* e *H. speciosa* var. *pubescens*, pode-se admitir um mecanismo de isolamento por distância, uma vez que ocorre em regiões diferentes, o que poderia refletir a história da colonização por diferentes populações ancestrais. A diferenciação morfológica do tamanho do pecíolo e limbo foliar é marcante e facilmente reconhecível a campo, refletindo mesmo, na aparência geral da planta. Na região limítrofe de ocorrência (nordeste de Goiás, divisa com a Bahia) é possível observar plantas com características intermediárias, o que leva à hipótese de hibridação entre tipos diferentes. Quanto às variedades *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *gardnerii*, a diferenciação se dá por uma única característica qualitativa. Em várias populações ocorrem os dois tipos, com florescimento simultâneo. Na hipótese de não haver restrição ao fluxo gênico, não haveria razão para se considerarem duas variedades diferentes, mas simplesmente um polimorfismo mendeliano (Chaves, 2002).

De modo geral, segundo Monachino (1945), a mangabeira é uma árvore de porte médio, com altura variando de 4 a 7 m, podendo chegar até 15 m, de crescimento lento, copa ampla, às vezes mais ramificada que alta. O tronco é geralmente único, tortuoso ou reto, com 0,2 a 0,3 m de diâmetro. Os ramos são inclinados, numerosos, separados e bem formados, de córtice levemente suberoso. Os ramos jovens são de coloração violácea, lisos até um ano de idade, meio angulosos, curtos, com poucas folhas, floríferos no ápice.

Caule rugoso e áspero com duas a três bifurcações na altura média de 40 a 50 cm da base. Toda a planta exsuda látex de cor branca ou róseo-pálida.

As folhas, geralmente decíduas, são simples, opostas, uniformemente espaçadas, coriáceas, elípticas, oblongo ou elíptico-lanceoladas nas duas extremidades, às vezes obtuso-subacuminadas no ápice, possuindo de 3,5 a 10,0 cm de comprimento e 1,5 a 5,0 cm de largura, glabras ou pubescentes, oliváceo-enegrescentes na face ventral, mais descoradas na dorsal; pecíolo de 3 a 15 mm, axilar, fino, glabro ou pubescente, biglanduloso (Ganga et al., 2009). A mangabeira é uma planta alógama (Dias & Maranhão, 1998) e apesar de suas flores serem hermafroditas, há uma auto-incompatibilidade entre as estruturas de reprodução, o que a torna obrigatoriamente dependente de polinizadores (Ganga et al., 2009).

O fruto do tipo baga é elipsoidal ou arredondado, de 2,5 a 6,0 cm de diâmetro, podendo ocorrer vários tamanhos na mesma planta; exocarpo amarelo com manchas ou estrias avermelhadas, polpa de sabor bastante suave, doce, carnososo-viscosa, ácida, contendo geralmente de duas a 15 ou até 30 sementes discóides (chatas) de 7 a 8 mm de diâmetro, castanho-claras, delgadas, rugosas, com o hilo no centro (Monachino, 1945). Embora o fruto da mangabeira, de aroma e sabor incomparáveis, seja o principal produto explorado, sobretudo pelas indústrias de polpas, sucos e sorvetes, outras partes da planta têm aplicação na medicina popular, como a casca, com propriedades adstringentes, e o látex, que é empregado contra pancadas, inflamações, diarreia, tuberculose, úlceras e herpes. O chá da folha é usado para cólica menstrual (Silva-Junior, 2004).

Darrault & Schlindwein (2005) estudaram o sistema reprodutivo da espécie, constatando que *H. speciosa* é autoincompatível. Segundo estes autores, a morfologia floral da mangabeira apresenta um papel funcional que lhe confere um sistema de polinização eficiente e favorável à polinização cruzada, além de permitir economia na produção de pólen. Relatam também o desenvolvimento inicial de frutos provenientes de flores autopolinizadas, o que pode estar relacionado a um mecanismo de auto-incompatibilidade tardio. Costa (2013) e Olevatti (2013) conduziram seus trabalhos com marcadores microssatélites em uma coleção de germoplasma, e confirmaram que a espécie *H. speciosa* é alógama e autoincompatível e que não há restrição de fluxo gênico entre as variedades botânicas.

Para compor a lista dos visitantes florais da mangabeira, Darrault & Schlindwein (2006) consideraram animais diurnos e noturnos, coletados nas flores de *H. speciosa* e esfingídeos capturados em iscas luminosas na área de estudo (Darrault & Schlindwein, 2006), considerando-se apenas aqueles com pólen de mangabeira em suas espirotrombas. Foram registrados 77 indivíduos de 33 espécies de visitantes florais, todos insetos, dos quais onze foram espécies de abelhas (Hymenoptera) e 23 de Lepidoptera. Destas, 50% referiram-se a *Sphingidae*, 39% a *Hesperidae* e 9% a *Nymphalidae*. Durante o dia, as visitas foram principalmente de abelhas *Euglossini* (Apidae) e borboletas *Nymphalidae*, com os hesperídeos mais freqüentes nos períodos crepusculares matutinos e os esfingídeos à noite (Darrault & Schlindwein, 2006).

Nas peças bucais de todos os visitantes florais foram encontrados grãos de pólen de outras espécies vegetais, indicando que não havia uma relação de especificidade entre *H. speciosa* e seus polinizadores. Contudo, os esfingídeos devem ser os mais importantes, pois foram o grupo mais registrado nas flores, salientando-se que sua freqüência foi relatada como subestimada, já que durante a noite vários espécimes foram observados, sem que se conseguisse a sua captura (Darrault & Schlindwein, 2006).

2.1.2 Aspectos econômicos e implicações para conservação

A espécie *Hancornia speciosa* desempenha um importante papel nos ecossistemas do Cerrado, pois servem de alimento para diversas espécies animais, inclusive para as populações humanas. Contudo, é pouco conhecida pela população de regiões urbanas, sendo de maior interesse para populações rurais. Nos últimos anos, começou a ser popularizada nas cidades devido à instalação de estabelecimentos comerciais que disponibiliza polpas e produtos de algumas espécies de frutas do Cerrado (Pereira et al., 2006; Guilherme et al., 2008).

A espécie é uma frutífera com alto potencial de produção devido às características organolépticas dos seus frutos e sua ampla aplicabilidade (Ferreira & Marinho, 2007). Seus frutos são bastante apreciados, sendo saborosos e de alto teor nutritivo, possuem excelente aceitação no mercado. São de boa digestibilidade, rico em vitaminas A, B1, B2 e C, ferro, fósforo, cálcio, proteínas e ácido ascórbico. Apresentam

alto potencial para o consumo, tanto *in natura* como na industrialização para a fabricação de doces, geléias, vinho, vinagre, suco e sorvete (Lederman et al., 2000).

O látex que ela produz também possui grande potencial comercial. Por ser de excelente qualidade, mole e de elevada plasticidade, foi bastante explorado para exportação no período áureo da borracha, durante a Segunda Guerra Mundial. E mesmo superado pela borracha de *Hevea brasiliensis*, ainda continua sendo bastante procurado devido a suas propriedades medicinais: ajudam no tratamento da tuberculose e úlceras, dermatoses e verrugas (Sousa et al., 2005).

A exploração da mangabeira é facilitada pelo padrão de distribuição em agregado. Contudo as grandes distâncias entre os locais de ocorrência e os centros de comercialização, associados à dificuldade de transporte devido à fragilidade do fruto, impedem que a exploração seja ampliada a um nível industrial. A maior parte da exploração existente nas regiões de Cerrado é realizada por populações locais a um nível extrativista (Pereira et al., 2006). Em estados da região nordeste alguns produtores começaram a estabelecer cultivos comerciais de *H. speciosa* (Soares et al., 2006). Entretanto, existem poucas informações sobre as técnicas de cultivo, o que tem impossibilitado a formação de pomares comerciais. Sendo assim, como no Cerrado, os pequenos produtores dependem da produção sazonal e exploram de forma extrativista os frutos da espécie.

Um programa de conservação de recursos genéticos de uma espécie nativa deve se basear, prioritariamente, na conservação *in situ*. (Nass, 2001). Tal estratégia pode ser complementada pela conservação *ex situ*, devendo-se priorizar, neste caso, a coleta de populações com maior risco de erosão genética (Chaves & Naves, 1998). Qualquer que seja a estratégia é essencial que se conheça a estrutura da variabilidade genética da população ou das populações que se deseja conservar. A estrutura genética envolve informações sobre a magnitude da variabilidade genética, a estruturação desta variabilidade entre e dentro de populações e a distribuição espacial da variabilidade. Basicamente, duas estratégias podem ser utilizadas para estudo da estrutura da variabilidade genética de populações (Chaves e Moura, 2003). A estratégia clássica envolve o estudo de caracteres quantitativos a partir do estudo de progênes e procedências. É uma estratégia muito útil quando se deseja promover a seleção de genótipos superiores

para fins de melhoramento genético. É também uma forma de conservação *in vivo* e *ex situ* de amostras de progênies de espécies nativas perenes. Outra estratégia, muito adotada atualmente para estudo de genética de populações, consiste na utilização de marcadores moleculares. A vantagem do uso de marcadores moleculares, principalmente aqueles baseados em polimorfismo do DNA, é a facilidade de uso e a não interferência das variações ambientais, o que permite o conhecimento da estrutura genética a partir de material vegetativo de plantas adultas (Chaves e Moura, 2003).

Segundo Chaves e Moura (2003), um programa voltado para o aproveitamento de uma espécie nativa como a mangabeira poderia ganhar em eficiência integrando-se as duas alternativas. Em um primeiro passo a estrutura genética de populações seria conhecida com o uso de marcadores moleculares. Tais estudos facilitariam a definição de estratégias para coleta de sementes para estudo de progênies, para alocação de áreas de conservação *in situ*, ou para definição de um programa de manejo sustentável.

2.2 DIVERSIDADE GENÉTICA

A sobrevivência das populações naturais diante das mudanças ambientais depende de adaptações que estão diretamente relacionadas à diversidade genética (Frankham et al., 2008). A diversidade genética é a variação hereditária responsável por parte das diferenciações fenotípicas dos indivíduos de uma população, assegurando à espécie um grande potencial adaptativo para contrapor aos efeitos gerados pelas estocasticidades ambientais, como as mudanças climáticas, competição, predação, patologias e fatores abióticos (Amos & Harwood, 1998). Desta forma, quanto maior a variabilidade genética existente na população, maiores são as chances de perpetuação da espécie. A manutenção da variabilidade genética em populações é a base da conservação e, portanto, sua descrição e distribuição são fundamentais para o estabelecimento de práticas conservacionistas e de manejo sustentável (Yeoh et al., 1996).

Segundo Brown (1990), a distribuição e organização da variabilidade genética nas populações naturais é denominada estrutura genética. Essa distribuição, em geral, não é aleatória e é resultado de diversas interações, tanto ecológicas, que afetam o padrão de colonização e mortalidade dos indivíduos, quanto por processos evolutivos como seleção

natural, deriva genética, mutação e migração (Cockerham, 1973; Hamrick & Godt, 1996). A seleção natural, assim como a deriva genética diferenciam as populações, enquanto que, a mutação gera diversidade que pode ser amplificada pela migração (Futuyma, 1992; Hartl & Clark, 2010).

A compreensão dos processos evolutivos dentro das populações naturais tem prosperado graças aos estudos da organização da variabilidade ou estrutura genética de populações, como objetivo de melhorar as estratégias de coleta, conservação, manejo sustentável e domesticação dessas espécies (Loveless & Hamrick, 1984; Alves et al., 2003). Os estudos de diversidade genética devem ser direcionados para a quantificação da variação existente e na caracterização dos níveis de variabilidade das populações. Lembrando que, em espécies arbóreas, os fatores que influenciam a organização e distribuição da diversidade incluem o tamanho efetivo populacional, a distribuição espacial da espécie, o sistema reprodutivo e os mecanismos de dispersão de sementes e pólen (Hamrick et al., 1992).

Nei (1972, 1977) mostrou que a diversidade genética total de uma população poderia ser analisada em seus componentes de variabilidade intra e interpopulacional, quando a mesma fosse definida como heterozigosidade esperada sob Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A quantificação da variabilidade genética dentro de populações pode ser efetuada a partir de medidas de diversidade genética intrapopulacional, que poderão ser estimadas a partir de dados de marcadores genéticos, como por exemplo, os microssatélites (Cavers et al., 2005). A descrição dos níveis de diversidade genética envolve o número de alelos por locos, frequências alélicas, frequências genotípicas, proporção de locos polimórficos, heterozigosidade observada e esperada (Nei, 1978) segundo as expectativas do Equilíbrio de Hardy-Weinberge o índice de fixação.

O número de alelos por loco e a porcentagem de locos polimórficos têm sido empregados como índices de diversidade em populações naturais, no sentido de caracterizar e comparar níveis de variação genética nestas populações. No entanto, estas duas estatísticas apresentam uma série de desvantagens que incluem desde a própria definição de polimorfismo, a dependência do tamanho amostral e o número e tipos de lócus envolvidos (Brown & Weir, 1983). Nei (1987) acredita que essas estatísticas são

consideradas medidas moderadas da variação genética quando um grande número de indivíduos e locos é analisado.

Em complemento com a porcentagem de locos polimórficos e com o número de alelos por loco, Nei(1972) e Weir (1996)consideram a frequência de heterozigotos um importante indicador da diversidade genética, uma vez que cada heterozigoto carrega alelos diferentes e, portanto, representa melhor a variação existente. Brown & Weir (1983) consideram como principais vantagens da heterozigosidade média, como medida de variabilidade, sua relativa insensibilidade ao tamanho amostral quando comparada a outras medidas e a fácil interpretação do seu significado e, como desvantagem, sua dependência da frequência dos dois alelos mais comuns.

De modo geral, todas essas estimativas são importantes uma vez que medem a redução da heterozigosidade observada em uma população. E essa redução, por sua vez, é um forte indicativo da ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados, um processo denominado endogamia. Em espécies diplóides, a endogamia aumenta a probabilidade de indivíduos receberem alelos idênticos por descendência. Assim, o endocruzamento apesar de não alterar as frequências alélicas, leva ao aumento da homozigose para todos os locos, o que reduz o valor adaptativo dos indivíduos(Hartl & Clark, 2010).

Outra questão importante em relação à diversidade genética refere-se à maneira pela qual a variabilidade genética é distribuída, organizada e mantida entre e dentro de populações naturais, ou seja, o nível de estruturação genética das populações (Hamrick, 1982). A estrutura genética, portanto, refere-se à distribuição heterogênea dos alelos e genótipos no espaço e no tempo, resultante da ação de forças evolutivas(Brown, 1978).

2.3 ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES

As populações naturais de plantas, normalmente, estão agrupadas em um conjunto de populações menores ou subpopulações. A consequência dessa distribuição é que os cruzamentos entre indivíduos, geralmente, não são aleatórios na população total de uma espécie. Assim, ocorrem com maior frequência os cruzamentos entre indivíduos

dentro das subpopulações e com menor frequência os cruzamentos entre indivíduos de subpopulações diferentes. Isso gera uma estrutura na população total, que é determinada pelo modo como as frequências alélicas estão arranjas, gerando uma diferenciação entre as populações (Hartl & Clark, 2010; Templeton, 2011).

A estrutura genética de populações de uma espécie refere-se, portanto, à forma como a variabilidade genética é distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma espécie (Brown, 1978). Esta estrutura pode ser manifestada entre populações geográficas distintas, dentro de um grupo local de plantas ou mesmo em grupos de progênies (Loveless & Hamrick, 1984) e pode ser definida como a distribuição não aleatória de alelos e genótipos (Hamrick et al., 1992).

Na natureza, várias forças podem promover tanto a diferenciação como a homogeneização genética em uma população. Alguns fatores ecológicos e evolutivos, como variação no conjunto gênico, distribuição espacial dos genótipos, sistema reprodutivo, dispersão de sementes e pólen (fluxo gênico), seleção natural, deriva genética, mutação, processos de crescimento, mortalidade e reposição dos indivíduos podem influenciar a distribuição da variabilidade genética dentro e entre grupos, trazendo inferências significativas na estrutura genética (Clegg, 1980; Hamrick, 1982; Loveless & Hamrick, 1984; Hamrick & Godt, 1990).

De importância primária para a formação da estrutura destacam-se a mutação, a seleção natural, o tamanho efetivo populacional e a habilidade da espécie de dispersar pólen e sementes (Hamrick, 1982). Dentre esses fatores evolutivos, a mutação e a migração aumentam a variabilidade genética, enquanto que a seleção natural e a deriva genética geralmente diminuem a variabilidade dentro das populações (Hartl & Clark, 2010; Templeton, 2011). Espécies que apresentam ampla distribuição geográfica, gerações longas, polinização pelo vento, sistema reprodutivo por cruzamentos e longo tempo de fecundidade, geralmente, tendem a manter maiores níveis de variabilidade genética (Hamrick, 1982; Hamrick & Godt, 1996). Já espécies com sistema reprodutivo misto, polinizadas por animais ou vento, dispersão das sementes pelo vento tendem a apresentar menor variabilidade genética entre populações e alta dentro das populações.

A estrutura genética das populações naturais é, portanto, resultado de forças evolutivas. Assim, estudos que evidenciam o padrão de organização dos genótipos nas populações revelam os fenômenos genéticos envolvidos na mudança da composição genética dessas populações. Essas informações são importantes nos esforços de amostragem de indivíduos, com a finalidade de preservar a máxima variabilidade genética possível e subsidiar programas de conservação para diversas espécies (Loveless & Hamrick, 1984; Frankham et al., 2008). Estudos sobre a estrutura genética permitem ainda evidenciar o modo de reprodução e estrutura familiar e estimar taxas de fluxo gênico (Slatkin, 1987). Essas informações também são importantes para auxiliar os programas de domesticação de espécies selvagem, ao apontar áreas promissoras para a coleta de germoplasma, no sentido de amostrar variabilidade e permitir possíveis ganhos genéticos no melhoramento.

Para quantificar a estrutura genética das populações três metodologias são empregadas: estatística F (Wright, 1951), diversidade gênica (Nei, 1973) e análise da variância das frequências gênicas (Cockerham, 1969). Em função dos modelos de Wright (1951) e de Nei (1973) não considerarem o erro associado à amostragem, eles tendem a ser viciados, sendo tanto maiores quanto menor for o tamanho da amostra. Mas, as três metodologias se complementam em relação ao significado biológico das estimativas obtidas, especialmente se os marcadores forem neutros, a amostragem for aleatória e as populações forem originadas de uma única população ancestral. Desta forma, as estatísticas F permitem a caracterização da distribuição da variabilidade genética entre as populações (F_{ST}), dos níveis médios de endogamia ao nível populacional (F_{IS}) e da endogamia total (F_{IT}). Os coeficientes de coancestria (θ) permitem a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de possibilitar a obtenção de estimativas de endogamia. A análise da divergência gênica em populações subdivididas permite a comparação dos níveis de heteroziguidade entre e dentro das populações, assim como a obtenção de uma estimativa de divergência, a partir de uma base diferente daquela que fundamenta as estimativas de F_{ST} e θ .

Estudos referentes à estrutura genética de populações nativas do Cerrado já podem ser encontradas na literatura com certa frequência, como por exemplo, *Caryocar brasiliense* Cambess. (Collevatti et al., 1999, 2001); *Plathyenia reticulata* Benth. (Lacerda et al., 2001; Lage Novaes et al., 2010); *Eugenia dysenterica* DC. (Zucchi et al.,

2002, 2003; Barbosa et al., 2015); *Annona crassiflora* Mart. (Telles et al., 2003; Blanco et al., 2007); *Eremanthus erythropappus* DC.(Barreira et al., 2006; Silva et al., 2008); *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Martins et al., 2006; Moura et al., 2009; Moura et al., 2011); *Zeyheria montana* Mart. (Bertoni et al., 2007); *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Telles et al., 2010; Collevatti et al., 2012); *Dipteryx alata* Vogel(Soares et al., 2008; Soares et al., 2012); *Tabebuia aurea* (Braga et al., 2007); *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Moreno et al., 2009)*Tabebuia ochracea* (Moreira et al., 2009); *Handroanthus heptaphyllus* VELL. (Mori et al., 2012).

2.4 CONSERVAÇÃO *in situ* E *ex situ*

A biodiversidade ou diversidade biológica é representada por todas as espécies de plantas, animais e microorganismos, em interação com os ecossistemas e os processos ecológicos do quais essas espécies fazem parte (Mittermeier et al., 1998). Goedert (2007) divide a biodiversidade em três níveis: diversidade genética que consiste na informação contida nos genes dos indivíduos; diversidade de espécies, que se refere à diversidade de organismos vivos na Terra; e diversidade de ecossistemas, que corresponde à variedade de habitats, comunidades biológicas e processos ecológicos.

Apesar do aumento do conhecimento científico em diversidade biológica ser evidente nos últimos anos, vários ecossistemas brasileiros ainda sofrem degradação contínua (Durigan et al., 2006). De acordo com Costa (2004), da área inicial do Cerrado, de cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, aproximadamente dois terços foram profundamente alterados pela ação humana. A ação humana direta ou indireta tem destruído a diversidade biológica em proporções comparadas às cinco extinções em massa reveladas pelo registro fóssil, o que faz com que seja considerada a sexta extinção em massa da história evolutiva (Frankham et al., 2008).

No sentido de conservar a biodiversidade dos trópicos, nas últimas décadas aumentou-se a percepção da necessidade de preservar as espécies animais e vegetais do Cerrado ameaçados de extinção, com especial atenção àquelas com potencial econômico, como as frutíferas. Para tanto, várias pesquisas são conduzidas para conhecer melhor as

espécies sob os aspectos genético, ecológico, fisiológico, e ainda, preservar os recursos genéticos (Costa, 2004).

Os recursos genéticos são uma parte bastante importante dessa biodiversidade e são definidos pelo Decreto Legislativo nº. 2.519, de 16 de março de 1998, como o material genético de valor real ou potencial usado pelo homem para a promoção do desenvolvimento sustentável. Neste contexto, os recursos genéticos vegetais compreendem plantas cultivadas e espécies silvestres com valor comprovado ou mesmo com elevado potencial agrícola, industrial ou medicinal que precisam ser urgentemente mantidos (Walter & Cavalcanti, 2005).

No contexto conservacionista e de manejo da diversidade biológica, há duas estratégias de conservação dos recursos genéticos vegetais que são complementares, a conservação de coleções *in situ* e *ex situ* (Nass, 2001; Rao, 2004). A escolha da estratégia depende de aspectos relacionados à espécie, dos objetivos e prioridades do programa de manejo. A conservação *in situ* consiste na manutenção e recuperação de recursos genéticos nos seus habitats naturais (Rao, 2004; Scariot & Sevilha, 2007). Já a conservação *ex situ* é a manutenção do germoplasma fora de seu habitat natural, sem riscos de alterações na sua composição genética (Karp et al., 1997; Vallois et al., 2001).

A essência da conservação *in situ* está na conservação do germoplasma na localidade em que é encontrado, seja em seus locais de origem ou onde desenvolveu suas características distintas (Scariot & Sevilha, 2007). Neste contexto, não estão incluídas aquelas situações em que o germoplasma foi transportado para uma localidade distante com o objetivo de facilitar a conservação.

Para populações naturais, especialmente de espécies ameaçadas, a conservação *in situ* é apontada como a mais apropriada (Nass, 2001; Chaves, 2002). Neste caso, a conservação se daria em reservas genéticas, especialmente criadas para este fim, levando-se em consideração a possibilidade de se manter a dinâmica das populações naturais, com o mínimo de erosão genética e, em consequência, a continuidade dos processos evolutivos que originam e mantêm a biodiversidade (Chaves, 2002). No Brasil, a conservação *in situ* é realizada segundo dois modelos: unidades de conservação de uso indireto e de uso direto. A primeira destina-se à conservação da biodiversidade, à pesquisa científica, à educação

ambiental e à recreação. Nessas unidades não se permite a exploração dos recursos naturais, podendo-se apenas usufruir indiretamente dos seus benefícios. Essas unidades incluem as reservas biológicas, os parques nacionais, áreas de interesse ecológico, as reservas particulares do patrimônio nacional e as áreas sob proteção especial. A segunda destina-se à conservação da biodiversidade, porém é permitido o uso de seus recursos naturais de forma sustentável. Essa categoria inclui as florestas nacionais, as áreas de proteção ambiental e as reservas extrativistas (Nass, 2001).

Embora a conservação *in situ* seja a estratégia mais adequada para populações naturais, esta deve ser completada pela conservação *ex situ* (Telles et al., 2001). Neste caso devem-se priorizar as áreas de maior risco de erosão genética por alterações antrópicas, coletando amostras para a conservação em coleções de germoplasma ou coleções *in vivo*. A conservação *ex situ* é uma estratégia preconizada para manter, em longo prazo e com máxima integridade genética e biológica, os genótipos de espécies fora de seu ambiente natural (Santos & Salomão, 2007).

A conservação *ex situ* de recursos genéticos inclui conservação de sementes, de material vegetativo *in vivo*, de DNA, de pólen e de coleções a campo. Santos & Salomão (2007) sugerem que as frutíferas do cerrado sejam mantidas em germoplasma em coleções a campo *in vivo*, em que a espécie pode responder às intempéries ambientais e aos estresses bióticos e abióticos. Na medida do possível, esta conservação é feita sob condições de armazenamento que propiciem o aumento do período de sobrevivência e garantam a estabilidade genética do material conservado. A necessidade da conservação *ex situ* geralmente é motivada pela ação antrópica e pela destruição do habitat natural, como o que tem ocorrido com as florestas tropicais, cerrados, mangues e outros biomas hoje em processo de degradação, onde ocorrem espécies de uso atual (via extrativismo) e potencial, além de parentes silvestres de espécies cultivadas (Nass, 2001). Nas coleções de germoplasma os recursos genéticos da espécie são armazenados para a manutenção da variabilidade genética visando à utilização em programas de melhoramento e conservação.

3 Capítulo 1: DIVERSIDADE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE VARIEDADES BOTÂNICAS DE *Hancornia speciosa* (APOCYNACEAE)

RESUMO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera da família Apocynaceae de grande importância social, econômica e cultural. São descritas seis variedades botânicas para esta espécie, *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *pubescens*, as quais se diferenciam por algumas características morfológicas, como tipo de folha e flor. Assim, o objetivo desse capítulo foi avaliar a diversidade genética das variedades botânicas da espécie *H. speciosa* existente no Cerrado, bem como avaliar a divergência genética entre as variedades botânicas da espécie *H. speciosa*, utilizando uma ampla amostragem de indivíduos e localidades. Amostras de mangabeira foram coletadas em 28 localidades ao longo do Cerrado. Foram obtidas amostras das variedades botânicas *H. speciosa* var. *pubescens*, *H. speciosa* var. *gardinerii*, *H. speciosa* var. *speciosa* e *H. speciosa* var. *cuyabensis*. O DNA extraído desses indivíduos foi utilizado para avaliar a variabilidade genética por meio de sete marcadores microssatélites. O número médio de alelos foi igual a 26,17, com uma riqueza alélica (A_r) média igual a 4,295. O menor valor encontrado foi de 3,263 em uma população de *H. speciosa* var. *gardinerii* e o maior foi de 4,892 encontrada na *H. speciosa* var. *pubescens*. Os valores médios de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o) foram, respectivamente, 0,704 e 0,636, indicando que a espécie apresenta uma elevada diversidade genética para os marcadores avaliados e para todas as variedades botânicas avaliadas. Os resultados obtidos para o índice de fixação (f) para cada subpopulação variaram de -0,087 a 0,215, com um valor médio de 0,098 para a *H. speciosa* var. *gardinerii*, 0,078 para a *H. speciosa* var. *pubescens*, 0,119 para a *H. speciosa* var. *speciosa* e 0,130 para a *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Estes resultados indicam que apesar do sistema reprodutivo auto-incompatível, o acasalamento entre indivíduos aparentados desempenha um papel importante na diferenciação genética das populações. A análise de variância molecular mostrou que apesar da variação genética entre variedades botânicas ser significativa ($F_{CT} = 0,027$; $p = 0,017$) a maior diferenciação está entre populações dentro de variedades ($F_{SC} = 0,104$; $p < 0,001$) e em populações independentes das variedades ($F_{ST} = 0,131$; $p < 0,001$). A *H. speciosa* var. *speciosa* se apresenta com a variedade botânica geneticamente mais divergente, seguida da variedade *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Assim, a variação genética encontrada para as variedades botânicas é pequena quando comparadas com a grande variação fenotípica que essas variedades exibem no Cerrado. Essa variação fenotípica pode ser explicada em parte pela plasticidade fenotípica.

Palavras-chave: microssatélites, variedades botânicas, diversidade, divergência genética, AMOVA

ABSTRACT

The mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) is a fruit of the Apocynaceae family of great social, economic and cultural. Six botanical varieties are described for this species, *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri* and *H. speciosa* var. *pubescens*, which are distinguished by some morphological characteristics, such as type leaf and flower. The objective of this chapter was to evaluate the genetic diversity of botanical varieties of the existing *H. speciosa* species in the Cerrado, and to evaluate the genetic divergence between the botanical varieties of the species *H. speciosa*, using a large sample of individuals and locations. Mangabeira samples were collected at 28 locations along the Cerrado. Samples were obtained from botanical varieties *H. speciosa* var. *pubescens*, *H. speciosa* var. *gardinerii*, *H. speciosa* var. *speciosa* and *H. speciosa* var. *cuyabensis*. The DNA extracted from these individuals was used to evaluate the genetic diversity through seven microsatellite markers. The average number of alleles was equal to 26.17 with an allelic richness (A_r) mean of 4.295. The lowest value was found to be 3.263 in a population of *H. speciosa* var. *gardinerii* and the highest was 4,892 found in *H. speciosa* var. *pubescens*. The average values of expected heterozygosity (H_e) and observed (H_o) were respectively 0.704 and 0.636, indicating that the species has a high genetic diversity for the evaluated markers and for all evaluated botanical varieties. The results obtained for the fixation index (f) for each subpopulation ranged from -0.087 to 0.215 with an average value of 0.098 for the *H. speciosa* var. *gardinerii*, 0.078 to *H. speciosa* var. *pubescens*, 0.119 to *H. speciosa* var. *speciosa*, and 0.130 for the *H. speciosa* var. *cuyabensis*. These results indicate that despite the self-incompatible reproductive system, the mating of related individuals plays an important role in the differentiation of genetic populations. The molecular variance analysis showed that despite genetic variation between botanical varieties be significant ($F_{CT} = 0.027$; $p = 0.017$) greater differentiation is between populations within varieties ($F_{SC} = 0.104$; $p < 0.001$) and in independent populations of varieties ($F_{ST} = 0.131$; $p < 0.001$). *H. speciosa* var. *speciosa* presents with the botanical variety genetically most divergent, then the variety *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Thus, the genetic variation found for botanical varieties is small compared to the large phenotypic variation that these varieties exhibit the Cerrado. This phenotypic variation can be explained in part by phenotypic plasticity.

Keywords: microsatellite, botanical varieties, diversity, genetic divergence, AMOVA

3.1 INTRODUÇÃO

O bioma Cerrado abriga uma grande riqueza de flora, o que o classifica com a mais diversificada entre as savanas mundiais (Mendonça et al., 1998). Toda essa biodiversidade está relacionada com a sua grande variedade de paisagens e tipos fitofisionômicos, além de sua posição geográfica, que permite amplo contato e intercâmbio florístico com outros biomas (Hogan et al, 2002; Sawyer, 2002; Sano et al., 2008). Há uma grande diversidade de habitats e de espécies, e a maioria destas está restrita a áreas específicas que, em caso de destruição, seriam levadas à extinção (Klink & Machado, 2005; Hogan et al, 2002).

A flora do Cerrado tem em sua composição muitas plantas que apresentam potencial de utilização, dentre as quais as espécies frutíferas ocupam um lugar de destaque por serem muito apreciadas pela comunidade da região (Almeida & Sano, 1998). O Cerrado apresenta diversas espécies nativas frutíferas como o Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.); Baru (*Dipteryx alata* Vog.); Araticum (*Annona crassiflora* Mart.); Cajuzinho (*Anacardium occidentale* L.); Buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.); Jatobá (*Hymenaea courbaril* Mart. ex Hayne); Araçá (*Psidium guineense* Swartz); Abacaxi do cerrado (*Annanas ananassoides* (Baker) L.B. Smith); Murici (*Byrsonima verbascifolia* (L) DC.), as quais possuem potencial de produção e possibilidade de cultivo para aproveitamento alimentar e econômico (Almeida et al., 2008; Pereira et al., 2006).

Dentre as diversas frutíferas nativas do Cerrado que apresenta potencial de utilização, a *Hanconia speciosa* Gomes merece destaque pelo seu amplo potencial econômico (Almeida & Sano, 1998). Conhecida popularmente como mangabeira, a espécie *Hanconia speciosa* é uma planta frutífera de clima tropical e nativa do Brasil, pertencente à família Apocynaceae. É encontrada em diversas regiões do país, desde os tabuleiros costeiros e baixada litorânea do Nordeste até os cerrados das regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste (Silva Junior, 2004).

Segundo Monachino (1945), a espécie compreende seis variedades botânicas que se diferenciam por algumas características morfológicas, principalmente da folha e da flor: *H. speciosa* var. *speciosa*: pecíolo de 9 mm a 15 mm de comprimento; limbo com

cerca de 6 cm de comprimento e 2 cm de largura; glabra; pedicelos glabros; cálice glabro ou raramente pubescente externamente; *H. speciosa* var. *maximiliani*: limbo com comprimento e largura um pouco menor e o pecíolo um pouco mais curto do que a variedade típica; pecíolo com cerca de 8 mm de comprimento; limbo de 5 cm a 6 cm de comprimento e 2,0 cm a 2,5 cm de largura; *H. speciosa* var. *cuyabensis*: pecíolo com cerca de 3 mm de comprimento; limbo de 4 cm a 10 cm de comprimento e 1,5 cm a 3,0 cm de largura; cálice glabro externamente; corola grande, glabra externamente; *H. speciosa* var. *lundii*: pecíolo com 3 mm a 5 mm de comprimento; limbo com 5 cm a 7 cm de comprimento e 3 cm de largura; pedicelos pubescentes; cálice cerdoso-pubescente externamente; corola com lóbulos pubescentes externamente; *H. speciosa* var. *gardneri*: pecíolo curto como a *H. speciosa* var. *lundii*; limbo com 7 cm a 10 cm de comprimento e cerca de 4 cm de largura, glabro na face dorsal ou pubescente na parte inferior da nervura central; *H. speciosa* var. *pubescens*: ramos densamente pubescentes; pecíolo curto como nas variedades *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *lundii*, pubescente; limbo pubescente na parte inferior, com 6 cm a 12 cm de comprimento e 3 cm a 6 cm de largura; corola maior com lóbulos cerdoso pubescentes, tubo pubescente externamente.

Apesar da relevância sócio-econômica e ambiental da mangabeira, sua exploração é feita basicamente de modo extrativista e predatório e as informações científicas relacionadas com as variedades botânicas são ainda escassas (Chaves, 2006). Uma das finalidades dos estudos populacionais refere-se à quantificação da variação genética existente entre e dentro das variedades botânicas, uma vez que ela é fundamental para a evolução e para conservação da espécie (Togglar et al., 1995). A falta de conhecimento sobre biologia, possibilidades de usos e variabilidade genética existente entre e dentro de populações em inúmeras espécies tem contribuído para a perda irreversível de recursos genéticos (Kageyama & Dias, 1985).

Dessa forma, o objetivo foi avaliar os níveis de diversidade e divergência genética nas variedades botânicas da espécie *Hancornia speciosa* com ocorrência no Cerrado, utilizando marcadores moleculares microssatélites, e ainda, avaliar a divergência genética das variedades botânicas da espécie *H. speciosa*.

Tabela 3.1 Localização geográfica de vinte e oito populações de *Hancornia speciosa* distribuídas ao longo Cerrado, com respectivos códigos, variedade, tamanho amostral, latitude e longitude

Localidades	Código	Variedade	Nº	Longitude	Latitude
Serra do Jaraguá/GO	HASgJARGO	<i>gardinerii</i>	32	-49,33523	-15,79572
Monte Carmelo/MG	HASgMCAMG	<i>gardinerii</i>	19	-47,46069	-18,82050
Mutunópolis/GO	HASgMUTGO	<i>gardinerii</i>	6	-49,22633	-13,63126
Porto Nacional/TO	HASgPONTO	<i>gardinerii</i>	32	-48,35153	-10,66698
Cocalinho/MT	HASgCOCMT	<i>gardinerii</i>	14	-51,08346	-14,34140
Matrinchã /GO	HASgMATGO	<i>gardinerii</i>	33	-50,92015	-15,20585
Portelândia/GO	HASgPOTGO	<i>gardinerii</i>	32	-52,66967	-17,15069
Pirinópolis/GO	HASgPIRGO	<i>gardinerii</i>	33	-48,57330	-15,51900
Natividade/TO	HASgNATTO	<i>gardinerii</i>	32	-47,61615	-11,93339
Faina/GO	HASgFANGO	<i>gardinerii</i>	18	-50,36055	-15,44611
Brasilândia/MG	HASgBRAMG	<i>gardinerii</i>	32	-46,06860	-17,24082
Selvíria/MS	HASgSELMS	<i>gardinerii</i>	33	-51,52251	-20,44976
Perdizes/MG	HASgPERMG	<i>gardinerii</i>	32	-47,36615	-19,35008
Fronteira/MG	HASgFROMG	<i>gardinerii</i>	32	-49,15412	-20,23102
Serra do Jaraguá/GO	HASpJARGO	<i>pubescens</i>	32	-49,33523	-15,79572
Mutunópolis/GO	HASpMUTGO	<i>pubescens</i>	26	-49,22718	-13,63169
Niquelândia/GO	HASpNIQGO	<i>pubescens</i>	33	-48,76678	-14,47645
Faina/GO	HASpFANGO	<i>pubescens</i>	14	-50,36055	-15,44611
Alto Paraíso/GO	HASpAPAGO	<i>pubescens</i>	23	-47,50294	-14,10448
Cocalinho/MT	HASpCOCMT	<i>pubescens</i>	18	-51,08346	-14,34140
Pirapora/MG	HASsPIPMG	<i>speciosa</i>	33	-45,36822	-17,47411
Roda Velha/BA	HASsROVBA	<i>speciosa</i>	32	-45,86708	-12,58142
Japonvar/MG	HASsJAPMG	<i>speciosa</i>	32	-44,22866	-15,94000
Chapada dos Guimarães/MT	HAScCHGMT	<i>cuyabensis</i>	32	-55,78762	-15,36535
Campo Grande/MS	HAScCAGMS	<i>cuyabensis</i>	32	-54,17124	-20,48713
Diamantina/MT	HAScDIAMT	<i>cuyabensis</i>	33	-56,27594	-14,44881
Tangará da Serra/MT	HAScTASMT	<i>cuyabensis</i>	32	-57,97515	-14,26609
General Carneiro/MT	HAScGCAMT	<i>cuyabensis</i>	25	-53,01189	-15,57166

3.2.2 Amostragem genética

A obtenção dos dados moleculares foi realizada no laboratório de Genética & Biodiversidade da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, Goiás. O DNA genômico foi extraído a partir do tecido foliar de cerca de 32 indivíduos adultos de cada população, seguindo o protocolo de *Cationic hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*, CTAB proposto por Doyle & Doyle (1987). Em seguida, o DNA total foi quantificado e diluído. A quantificação foi realizada com o auxílio de um marcador de peso molecular (*Low DNA*

mass ladder da Invitrogen®) em gel de agarose 1% e tampão para eletroforese TBE 1X. A diluição foi realizada para uma concentração de trabalho de 2,5ng μL^{-1} e armazenado a -20°C.

O método utilizado para detecção dos genótipos foi baseado na separação de fragmentos microssatélites (SSR) marcados com fluorocromos através de eletroforese capilar automatizada (ABI PRISM® 3500 *Genetic Analyzer* – *Applied Biosystems*). Os fragmentos microssatélites, amplificados via PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), são injetados em capilares finos, preenchidos com polímero, para, em seguida serem submetidos a uma eletroforese em alta voltagem. A tensão gerada causa o movimento dos fragmentos de DNA através do polímero, em direção ao pólo positivo. Durante o trajeto as amostras passam pela região do laser, onde a fluorescência é detectada.

Para as reações de amplificação via PCR foram utilizados sete pares de iniciadores de regiões microssatélites desenvolvidos por Rodrigues et al. (2015) e marcados com um dos fluorocromos: 6-FAM, HEX ou NED (Tabela 3.2). As reações foram preparadas a partir de um coquetel de reagentes para um volume final de 15 μL , contendo cerca de 5ng μL^{-1} de DNA genômico, 1X Tampão da Enzima 10X; 0,25 mM dNTPs; 3,33 mg BSA; 0,156mM Iniciador *foward* ; 0,156mM Iniciador *reverse* e 1U de *TaqDNA* Polimerase. Para a amplificação do DNA o programa de termociclagem foi composto dos passos descritos a seguir: (1°) desnaturação do DNA a 94°C por 5 minutos; (2°) 94°C por 1 minuto; (3°) temperatura específica de anelamento do iniciador por 1 minuto; (4°) extensão da molécula pela enzima *TaqDNA* polimerase a 72°C por 1 minuto; (5°) 35 ciclos seguindo do 2° ao 4° passo; (6°) passo final de extensão de 45 minutos para finalizar os produtos amplificados.

Tabela 3.2 Relação dos pares de iniciadores de regiões microssatélites utilizados e suas características. M: motivo de repetição da região microssatélites; AVA: refere-se à variação da amplitude alélica de cada loco microssatélites; TA: é a temperatura de anelamento do iniciador; F: fluorocromo utilizado no iniciador

Primer	M	AVA	TA	Sequência <i>Foward</i>	F
Hs30	(AG)10	198-206	56 °C	GAGGAATCTCAGCCAAGTCCTA	HEX
Hs16	(GA)12	108-138	58 °C	CGTTGGTAGCGGCTGTATTAAG	6 FAM
Hs06	(GA)14	106-138	46 °C	CGGCTGTATTAAGTCTATTGCCA	NED
Hs08	(CA)6 (CT)17	220-254	42 °C	AATGTAGAGGTGAACGAGTGGG	6 FAM
Hs01	(GCA)6 (TC)20 (GCA)8	230-298	48 °C	GTGTCTTCCATCCGAGCTTAAC	HEX
Hs11	(GA)17	125-129	44 °C	AAGGTATCTCCATGAAAGTCTCTGA	HEX
Hs05	(GA)15 (TGC)6	152-222	48 °C	GGGTGTACTGCCACAAGGTACT	NED

Após a amplificação, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese capilar em sequenciador automático, sendo todo processo eletroforético realizado em um sequenciador ABI PRISM® 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Os alelos foram nomeados com o auxílio do programa GeneMapper 3.5 (*Applied Biosystems*), utilizando o marcador padrão GeneScan™ 500 Rox™ Size Standard (*Applied Biosystems*).

3.2.3 Variabilidade genética das variedades botânicas

A fim de detectar a evidência de possíveis erros durante a determinação dos genótipos, foi utilizado o software Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004) que possibilita investigar a existência de alelos nulos, *stutter* e *dropout*.

Para o conjunto dos locos foram estimadas as frequências dos alelos e foi testado o desequilíbrio de ligação (LD) entre os pares de locos, para tanto foram utilizadas 10.000 randomizações utilizando o programa FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2002). Em seguida, os genótipos dos indivíduos de todas as variedades botânicas foram utilizados para caracterizar a variabilidade genética existente nos marcadores microssatélites utilizados. Para tanto, foram realizadas as estimativas do número médio de alelos por loco (A), riqueza alélica (Ar), frequências alélicas e genotípicas, heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) sob condições de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Nei, 1978) e o índice de fixação intra-populacional (f). Todas as estimativas foram realizadas para cada loco e para o conjunto de locos, utilizando o software FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 1995, 2002) e GDA (*Genetic Data Analysis*) (Lewis & Zaykin, 2002).

As distribuições geográficas das estimativas de Ar , H_e e f , das populações, foram avaliadas pela correlação de Pearson (r), realizando testes entre estas variáveis genéticas e variáveis geográficas como, latitude e longitude. Os testes foram realizados no programa SAM v. 4.0 (Rangel et al., 2010).

3.2.4 Divergência genética entre variedades botânicas

Com os dados obtidos, foi realizada a análise da variância de dados moleculares (AMOVA), conforme descrito por Excoffier et al. (1992) usando o software ARLEQUIM, versão 3.5, para verificar a distribuição da variação entre e dentro das variedades e populações e se o grau de variação foi estatisticamente significativo. Este modelo estatístico baseia-se nas análises de diferentes níveis hierárquicos: primeiro é obtido com a permutação entre grupos (F_{CT}), o segundo entre populações dentro dos grupos (F_{SC}) e o terceiro dentro das populações (F_{ST}) (Tabela 3). Assim, os indivíduos são reunidos em grupos previamente definidos. No caso deste trabalho, utilizou-se distribuição por variedade botânica para a montagem dos grupos hierárquicos. Assim, três diferentes AMOVAs para estimar a diferenciação populacional, foram realizadas com 1000 permutações. Uma AMOVA foi realizada para avaliar a divisão da diversidade genética total entre as variedades e dentro delas. Para a segunda AMOVA, as populações foram agrupadas de acordo com os agrupamentos genéticos resultantes da análise Bayesiana obtida pelo programa Structure. E por fim, a terceira AMOVA foi realizada para estimar o quanto da variação entre grupos é devido às quais variedades. As estatísticas-F foram utilizados para estimar a proporção da variabilidade genética encontrada entre as populações (F_{ST}), entre as populações dentro de variedades (F_{SC}) e entre (F_{CT}).

Tabela 3.3 Esquema de Análise de Variância Molecular (AMOVA)

FONTE DE VARIACAO	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Esperança dos quadrados médio
Entre variedades	G-1	SSD(AG)	$n''\sigma_a^2 + n'\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Entre populações dentro de variedades	P-G	SSD(AP/WG)	$n\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Entre indivíduos dentro de populações	N-P	SSD(AI/WP)	$2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Dentro indivíduos	N	SSD(WI)	σ_d^2
Total	2N-1	SSD(T)	σ_T^2

Em que:

$$F_{CT} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}, F_{IT} = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_b^2 + \sigma_c^2}{\sigma_T^2}, F_{IS} = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_c^2 + \sigma_d^2} \text{ e } F_{SC} = \frac{\sigma_b^2}{\sigma_b^2 + \sigma_c^2 + \sigma_d^2}$$

O programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), que usa modelo de agrupamento Bayesiano, foi utilizado para inferir o número de populações geneticamente distintas (K). Esse modelo utiliza simulações de MCMC (Monte Carlo via Cadeia de Markov) para estimar a associação de grupo de cada indivíduo, assumindo equilíbrio de Hardy-Weinberg e de ligação dentro dos grupos, acasalamento ao acaso dentro das populações e recombinação livre entre locos (Pritchard et al., 2000), sem suposições *a priori* sobre os limites populacionais. Oito corridas independentes para cada K (1 a 30) foram realizadas para avaliar a consistência dos resultados, utilizando o modelo de mistura (*admixture model*), o qual assume que cada indivíduo pode ter ancestrais de mais de uma população, e frequências alélicas correlacionadas entre as populações. As simulações foram feitas com um *burn-in* de 50.000 iterações, para minimizar o efeito da configuração inicial, seguido por 1.000.000 iterações MCMC. O valor de K que melhor representou o agrupamento dos indivíduos foi definido pelo patamar da distribuição de probabilidade à posteriori, utilizando o método de DeltaK (Evanno et al., 2005) no programa STRUCTURE HARVESTER v. 0.6.93 (Earl & VonHoldt, 2012). Para fazer a média das réplicas das matrizes de coancestria, que foram geradas para um conjunto de dados, foi utilizado o programa CLUMPP v. 1.1.2. (Jakobsson & Rosenberg, 2007). Neste programa é gerada por permutação uma matriz com maior correspondência possível com as réplicas. A construção do gráfico para visualização do agrupamento dos indivíduos foi feita pelo programa DISTRUCT (Rosenberg, 2003).

Na análise de Coordenadas Principais (PCoA), implementada no programa R pacote “ape”, foi utilizada a matriz de F_{ST} par-a-par para produzir um gráfico de coordenadas no qual as populações estão representados por pontos no plano cartesiano (Gower, 1966). Assim como as análises de agrupamento, esta análise permite visualizar o nível de diversidade genética das populações.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Diversidade alélica das variedades botânicas

A análise pelo programa Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004) indicou evidência de alelos nulos, devido o excesso de homozigotos, e “*stutter*” para todos os locos

de apenas três populações, Brazilândia-MG, Diamantina-MS e Campo Grande-MS, e não evidenciou a presença de “*drouput*” de alelos para nenhuma população. De acordo com De Woody *et al.* (2004), processos demográficos como endocruzamentos e efeito Wahlund resultam em excessos de homozigotos em todos os locos, enquanto erros devido a “*stutter*” e “*drouput*” e alelos nulos afetam apenas alguns locos.

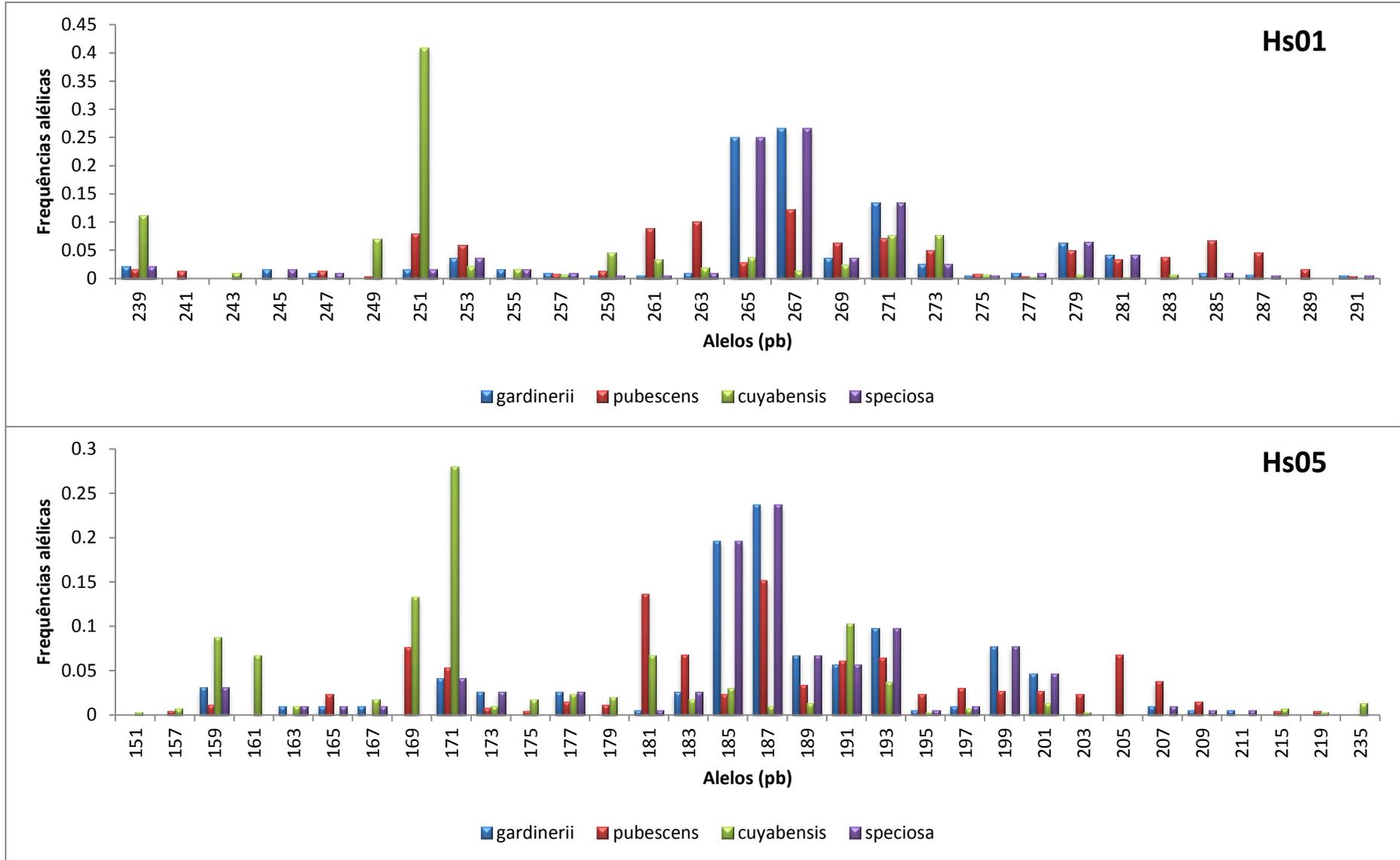
Medeiros (2006) observou uma superestimação de alelos nulos para cinco locos avaliados pelo programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004) com excesso significativo de homozigotos em relação às frequências estimadas através da análise de progênie de *T. aurea*. Dados similares foram obtidos por Bajay *et al.* (2011) em vinte e seis locos SSRs desenvolvidos para mamona (*Ricinus communis*). Uma vez que a análise do Programa MICRO-CHECKER é feita para a população através de um modelo que assume Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Brookfield, 1996), e muitos locos desviaram das frequências esperadas, a frequência de alelo nulo pode ter sido superestimada porque esse modelo não desconta o excesso de homozigotos devido o endocruzamento. Em nosso estudo é possível que a presença de alelos nulos em todos os locos em três populações seja devido a fatores comportamentais da espécie que podem ter contribuído para o excesso de homozigotos, como o sistema reprodutivo e dispersão de pólen e sementes.

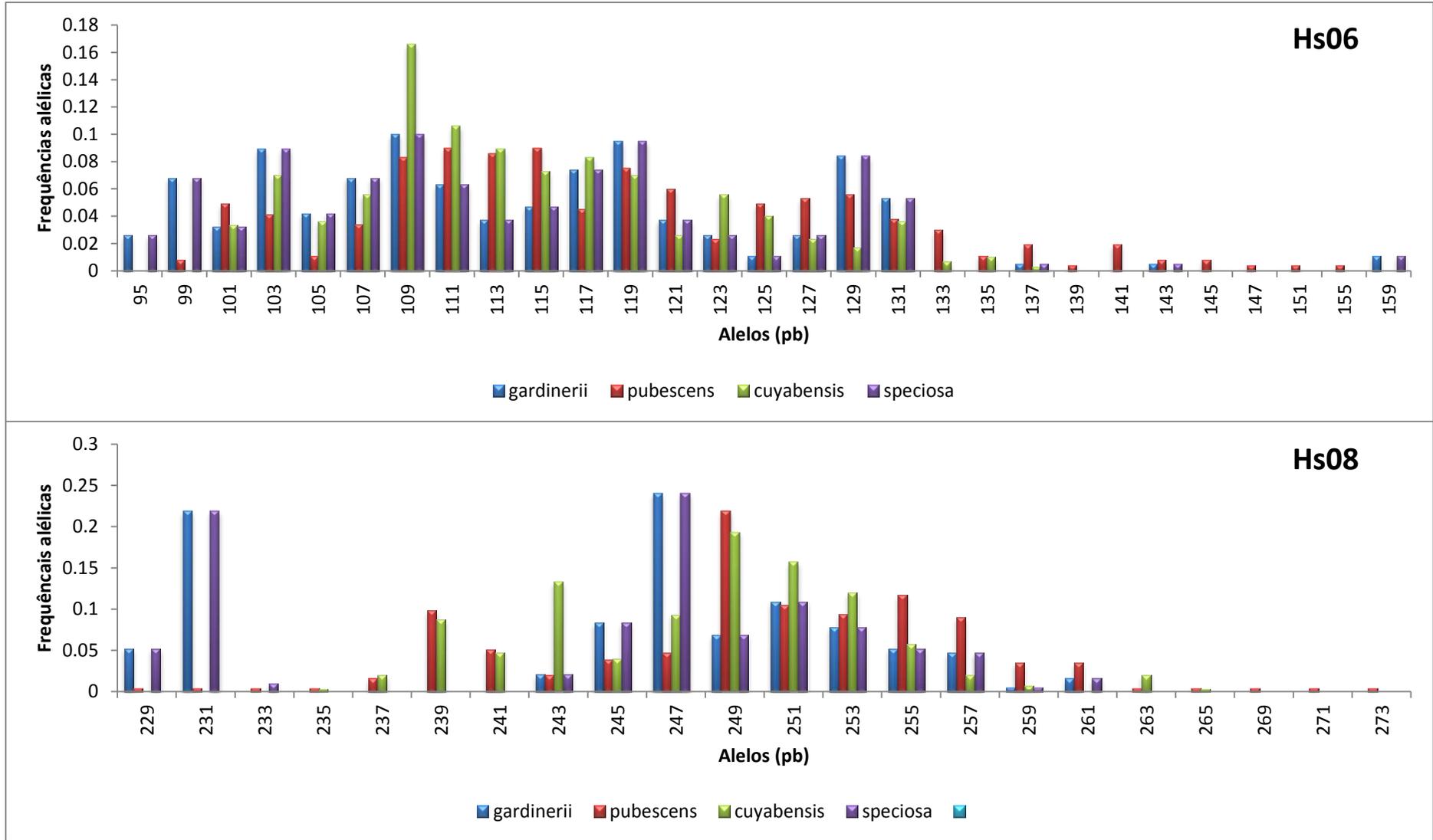
Todos os locos utilizados nas análises foram polimórficos e corroboram com as premissas do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,001$). Estudos de ligação entre locos são importantes porque geralmente os locos detectados são utilizados para calcular médias entre si, de forma que locos ligados tendem a gerar vícios nas estimativas, por aumentarem o peso de um padrão observado no cálculo da média entre locos. A maioria dos locos está em equilíbrio de ligação, eles demonstraram ser independentes quando testado o desequilíbrio de ligação ($p < 0,002381$) (Apêndice C). Desta forma, esses locos não-associados são considerados ideais para os estudos de diversidade e estrutura genética.

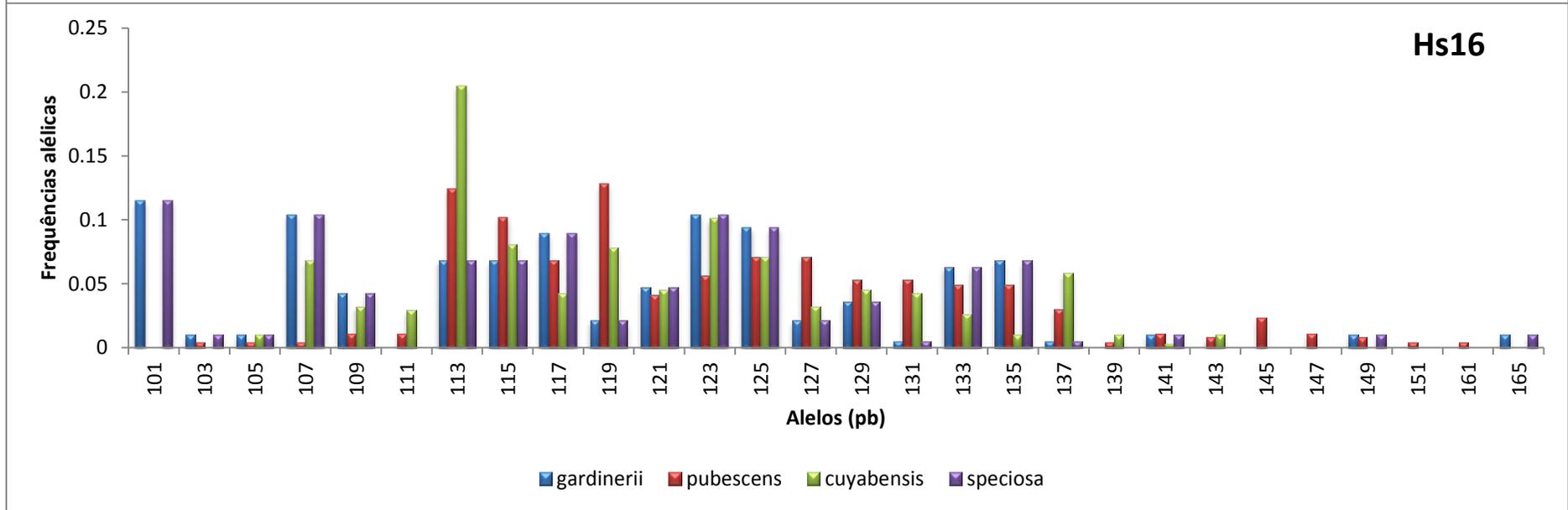
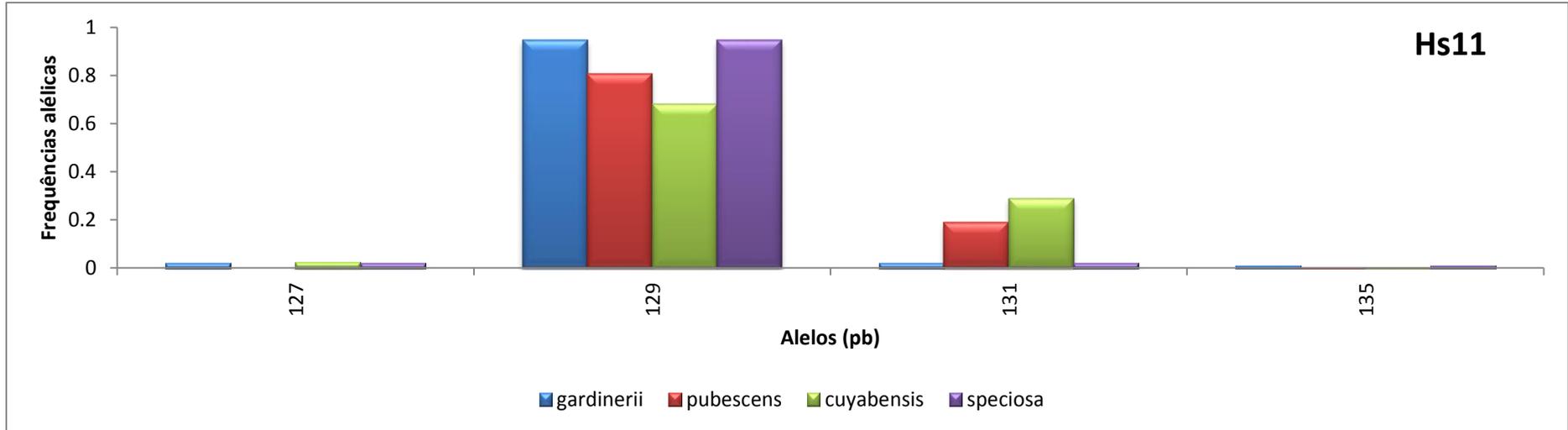
Os sete locos microssatélites detectaram 157 alelos nas vinte e oito populações de *Hancornia speciosa*, com média de 26,17 alelos por locos (Apêndice A e B). O número de alelos (A) por locos variou de 6 (Hs30) e 7 (Hs11) alelos a 33 alelos (Hs05), confirmando o alto conteúdo de informação genética desse tipo de marcador para estudos em espécies arbóreas tropicais. Costa (2013) estudando uma única população de *H. speciosa* encontrou 17,8 alelos por locos microssatélites, enquanto, Amorim *et al.*, (2015)

encontraram apenas 6 alelos por locos avaliando seis populações da variedade *H. speciosa* var. *speciosa* no nordeste brasileiro. Valores similares foram encontrados em outras espécies florestais, incluindo *Sextonia rubra* (Veron et al., 2005), *Eugenia dysenterica* DC. (Barbosa et al., 2015), *Hymenaea courbaril* Hayne (Carneiro et al., 2011), *Manilkara huberi* Ducke (Azevedo et al., 2007), *Hevea brasiliensis* Aubl. (Gouvêa et al., 2010), *Bertholletia excelsa* (Sujii et al., 2015), *Caryocar brasiliense* (Collevatti et al., 2001) e *Anacardium occidentale* L. (Oliveira, 2014). As frequências alélicas (Apêndice B) e número de alelos de cada um dos sete locos microssatélites analisados foram representados graficamente nas Figuras 3.2 e 3.3.

Ao agrupar os indivíduos de acordo com a variedade botânica a qual pertence, a variedade que apresentou maior número de alelos foi a variedade *gardinerii* (150 alelos) e o menor número de alelos foi verificado na variedade *cuyabensis* (101 alelos) (Figura 3.3). Em todos os locos existiram casos de alelos com baixa frequência ($< 0,01$).







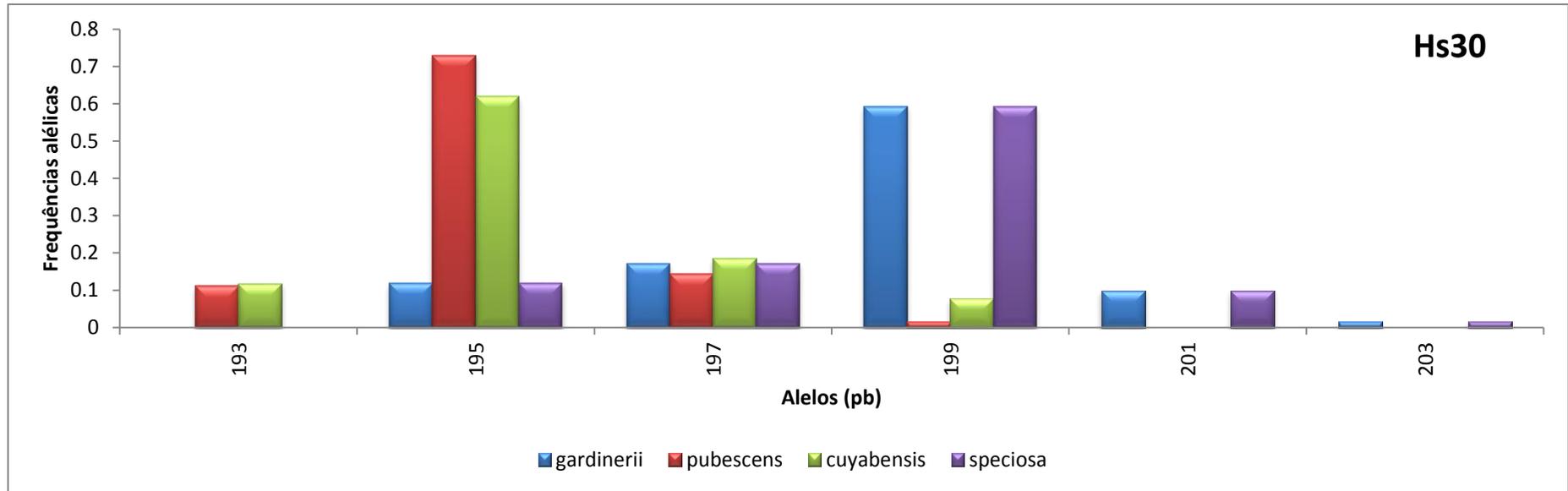


Figura 3.2 Frequências alélicas dos sete locos microssatélites analisados por variedade botânica, estimados para 777 indivíduos de *Hancornia speciosa* oriundos de 28 populações naturais

Pode-se observar que todos os histogramas de distribuição das frequências dos alelos demonstraram padrão unimodal ou bimodal em todos os locos, condizentes com o tipo de evolução dos microssatélites (Schlötterer, 2000; Li et al., 2002; Oliveira et al., 2006). É possível ainda identificar os alelos privados em cada variedade (Figura 3.2).

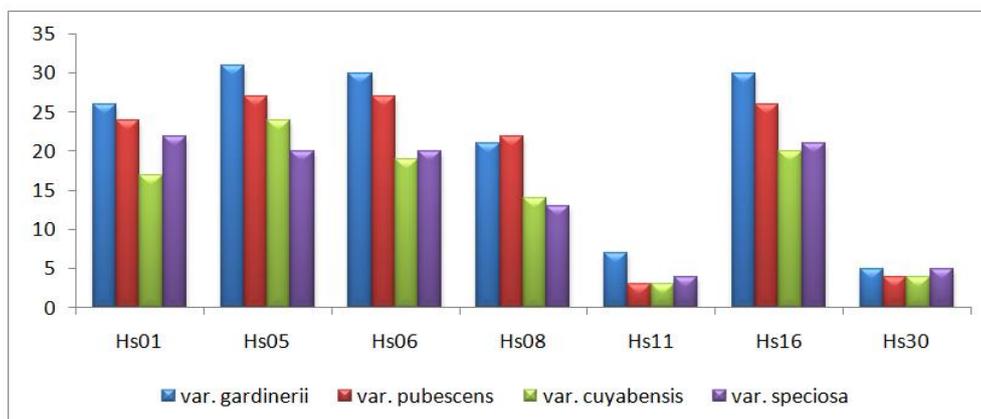


Figura 3.3 Número de alelos de cada um dos locos microssatélites analisados, estimados para 777 indivíduos de quatro diferentes variedades botânicas de *Hancornia speciosa*

Os alelos foram classificados de acordo com suas frequências e distribuição entre as populações (Tabela 3.4). Os alelos comuns e intermediários (3 e 46, respectivamente) se apresentaram em menor quantidade em relação aos alelos raros (108) provavelmente devido às altas taxas de mutação dos microssatélites (Slatkin, 1995). Valores como o apresentado nessa pesquisa foram encontrados em duas populações de andiroba (*Carapa guienensis*) (Raposo et al., 2007) e em seis populações de mata-mata amarelo (*Eschweilera coriacea*) (Amâncio, 2011). Foram observados ainda, 41 alelos privados, destes, 100% foram classificados como raros.

Em estudos envolvendo frutíferas do Cerrado, foram encontrados resultados semelhantes para a média da estimativa do número de alelos. Zucchi et al. (2003) em estudo de caracterização de estrutura genética de cagaita (*Eugenia dysenterica*) obteve um número médio de alelos de 10,43. Para araticum (*Annona crassiflora*) foi encontrado número médio de alelos de 19,3 (Pereira et al., 2008). No entanto, para lobeira (*Solanum lycocarpum*) (Moura et al., 2011) e baru (*Dypteryx alata* Vogel) (Soares et al., 2012) foram encontrados valores respectivamente inferiores 3,90 e 2,5. As estimativas são

relativamente baixas para o esperado para locos microssatélites que são multialélicos por definição (Schlötterer, 2000). Em relação ao baru deve-se levar em consideração que o baixo número de alelos encontrados é típico da espécie e considerado exceção às características das nativas do Cerrado por esse motivo (Soares et al., 2012).

Tabela 3.4 Classificação do número de alelos de acordo com sua frequência entre amostras de *Hancornia speciosa* considerando sete locos microssatélites

Tipo de alelos	Hs01	Hs05	Hs06	Hs08	Hs11	Hs16	Hs30	Total
Raros (< 0,05)	20	27	19	14	5	21	2	108
Intermediários (> 0,05 e < 0,2)	7	6	11	9	0	10	3	46
Comuns (> 0,2)	0	0	0	0	2	0	1	3

Verifica-se na Figura 3.4 e Tabela 3.5, que de um total de 157 alelos dos sete locos avaliados, foram encontrados apenas 21 alelos privados por variedade botânica, em que 5 alelos foram exclusivos de *H. speciosa* var. *gardinerii*, 10 alelos de *H. speciosa* var. *pubescens*, 4 alelos de *H. speciosa* var. *cuyabensis* e 2 alelos de *H. speciosa* var. *speciosa*. Quando analisadas por população, existem apenas 9 alelos privados, conforme Tabela 3.5. Esses alelos privados por variedade e também por população podem ser informativos para diversos tipos de estudos genético-populacionais, em áreas como ecologia molecular e genética da conservação (Szpiech & Rosenberg, 2011). Slatkin (1995) e Slatkin & Barton (1989) mostraram que os alelos privados podem contribuir como indicadores de fluxo gênico, encontrando em modelos teóricos de estrutura populacional que a ocorrência de alelos privados estava relacionada ao número médio de migrantes trocados por geração entre populações. Bajay et al. (2011) usando locos microssatélites, encontrou resultados similares para três populações de *Ricinus communis*, o que sugere que alelos privados são frequentes e podem indicar fluxo gênico restrito.

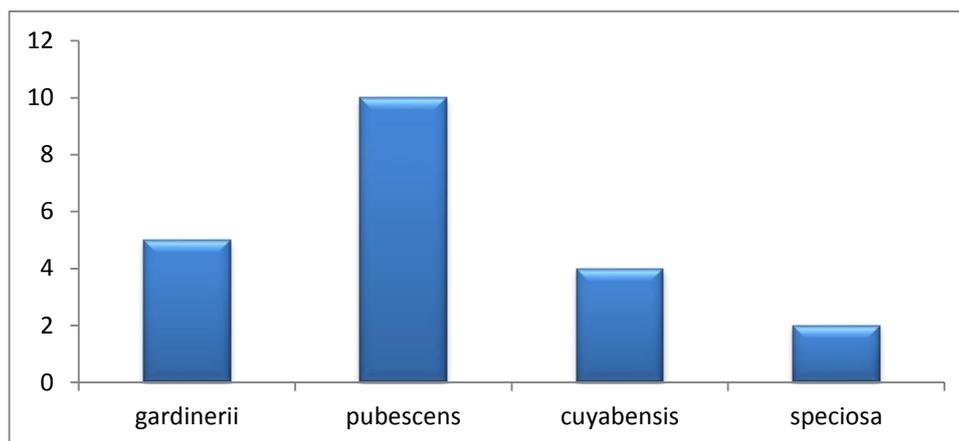


Figura 3.4 Número de alelos privados por variedades botânica de um total de 157 alelos de sete locos microssatélites em 28 populações de *Hancornia speciosa*

Tanto a riqueza alélica quanto a presença de alelos raros são importantes na tomada de decisões conservacionistas. Neste trabalho, a alta porcentagem de alelos raros encontrados nas populações indica o comprometimento das mesmas com a perda de diversidade genética pela atuação de deriva genética. A porcentagem de alelos perdidos (geralmente alelos raros) é o melhor indicativo para demonstrar a perda de variabilidade genética em populações advindas de fragmentação (Kalinowski, 2004). A presença de alelos raros nas populações de *H. speciosa* estudadas comprova a importância de se conservar a maioria dos indivíduos amostrados, uma vez que esses alelos podem ser importantes na contribuição da variabilidade genética da espécie.

Tabela 3.5 Alelos privados por população de *Hancornia speciosa* e frequência com que ocorrem

População	Loco	Alelos	Freq. Alélica
HAScDIAMS	Hs05	235	0,064
HASgFROMG	Hs05	149	0,016
HASgPONTO	Hs08	267	0,038
HASpAPAGO	Hs08	271	0,028
HASgFROMG	Hs11	123	0,031
HASgNATTO	Hs16	153	0,016
HASgNATTO	Hs16	151	0,032
HASsROVBA	Hs30	203	0,047
HASsROVBA	Hs30	206	0,016

3.3.2 Diversidade genética populacional

Os resultados das análises de caracterização genética das 28 populações estão na Tabela 3.6. Em média, foram analisados cerca de 32 indivíduos por população. Todos os locos foram polimórficos, sendo que o número médio de alelos por loco variou de 4,757 (HASgMUTGO) a 13,142 (HASgBRAMG), com uma média de 8,918 alelos/loco. A riqueza alélica (A_r) média foi de 4,295, sendo que o menor valor encontrado foi de 3,263 em uma população da variedade *H. speciosa* var. *gardinerii* (HASgFROMG) e o maior foi de 4,892 encontrada na população de HASpJARGO, variedade *H. speciosa* var. *pubescens*. Os valores médios de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o) foram, respectivamente, 0,704 e 0,636, sendo que o menor índice de diversidade genética (H_e) ocorreu na população de Fronteiras-MG (0,559) e o maior ocorreu em Jaraguá-GO (0,776). Esses valores indicam que a espécie apresenta uma elevada diversidade genética para os marcadores avaliados e para todas as variedades botânicas. A variedade botânica *H. speciosa* var. *pubescens* foi a que apresentou maior diversidade (0,737), enquanto que a variedade *H. speciosa* var. *speciosa* apresentou menor diversidade genética (0,677). Quando os valores médios de diversidade genética (H_e e H_o) são comparados por variedade botânica, segundo o teste de permutação, não é observada diferença significativa.

Poucos estudos foram realizados com populações de *H. speciosa* com base em marcadores moleculares microssatélites (Moura et al., 2011; Silva et al., 2012; Rodrigues et al., 2015; Amorim et al., 2015). No entanto, os resultados destes estudos têm mostrado altos níveis de diversidade genética entre populações, sugerindo que um grande número de populações devem ser tomadas para a conservação genética das espécies.

Quando as populações, desprezando a estrutura de variedade botânica, são comparadas, foi observada diferença significativa entre os valores da heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg para a maioria das populações analisadas, resultando em valores de f significativos (Tabela 3.6). Os resultados obtidos para o índice de fixação (f) para cada população variaram de -0,087 a 0,215, com um valor médio de 0,098 para a variedade *H. speciosa* var. *gardinerii*, 0,078 para a *H. speciosa* var. *pubescens*, 0,119 para a *H. speciosa* var. *speciosa* e 0,130 para a *H. speciosa* var. *cuyabensis*. O índice de fixação intrapopulacional ($f = F_{IS}$) global para todas as populações foi de 0,099, pelo processo da análise de variância obteve-se $f = 0,103$

($p < 0,027$). Estes resultados, juntamente com os testes exatos de Fisher para teste de aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Apêndice B), indicam que apesar do sistema reprodutivo auto-incompatível, o acasalamento entre indivíduos aparentados pode desempenhar um papel importante na diferenciação genética *H. speciosa*. Esses resultados corroboram com o recente estudo de Amorim et al. (2015), com a variedade típica *H. speciosa* var. *speciosa* na região do nordeste brasileiro, no qual o índice de fixação intrapopulacional (f) positivo presente em todas as populações indica endogamia resultante do cruzamento entre indivíduos aparentados.

Os estudos do sistema reprodutivo da espécie e dos padrões de dispersão de pólen e sementes são fundamentais para a endogamia nas populações. A mangabeira com sistema de auto-incompatibilidade bem definido (Costa, 2013 e Olevatti, 2013) necessita de polinizadores com peças bucais longas que garantam a polinização cruzada para formar os frutos. As flores brancas, hipocrateriformes, emitem forte perfume adocicado durante a antese noturna que atrai esfingídeos de várias espécies durante a noite (Darrault; Schilndwein, 2005, 2006). De manhã, flores são visitadas por borboletas *Hesperiidae* e abelhas *Euglossini*. Grande quantidade de pólen que adere às peças bucais após a visita é removida durante uma única busca de néctar nas flores. O aparelho de polinização altamente eficiente garante, em apenas uma visita, a transferência de pólen em quantidade suficiente para fecundar os numerosos óvulos. À baixas abundâncias de polinizadores, visitas florais subsequentes na mesma copa, durante a floração maciça da mangabeira, podem ser responsáveis pela baixa taxa de frutificação e endogamia gerada por cruzamentos entre indivíduos aparentados (Oliveira et al., 2014). Já a dispersão de frutos se dá por grandes mamíferos e aves que, provavelmente, enterram as sementes do mesmo fruto em locais mais distantes da população original, ocasionando também uma endogamia significativa.

Os valores de heterozigidade esperada superior à observada corroboram com trabalhos de outras frutíferas do Cerrado. Para *Annona crassiflora*, Pereira et al. (2008) obteve os valores de heterozigidade esperada (H_e) e observada (H_o) de, respectivamente, 0,906 e 0,805. Para *Dypteryx alata* Vogel, Soares (2008) estimou os mesmos parâmetros em 0,226 e 0,221, respectivamente. Em contrapartida alguns trabalhos de caracterização da estrutura genética de populações naturais de frutíferas do Cerrado encontraram valores de H_o maiores que H_e (Zucchi et al., 2003; Moura, 2007), o que indica a presença de mais

heterozigotos nas populações estudadas do que o esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A diversidade genética observada neste trabalho referente as vinte e oito populações de *H. speciosa* pode ser considerada alta ($H_e = 0,704$). Considerando outras espécies que também ocorrem no Cerrado, a diversidade genética de *H. speciosa* está entre os valores encontrados (ver Collevatti et al., 2001; Zucchi et al., 2003; Martins et al., 2006; Ciampi et al., 2008; Pereira et al., 2008; Soares et al., 2008; Batistini et al., 2009; Feres et al., 2009; Rabelo et al., 2011; Telles et al., 2013; Barbosa et al., 2015). Sendo que, *H. speciosa* apresentou valor similar ao encontrado em estudo realizado com 18 locos microssatélites para seis populações de *Euterpe edulis* ($H_e = 0,730$; Gaiotto, 2003) e oito locos microssatélites para vinte populações de *A. occidentale* ($H_e = 0,750$; Oliveira, 2014) uma característica comum entre estas duas espécies é que ambas possuem sistema reprodutivo predominantemente alógamo. A diversidade genética da espécie *Caryocar brasiliense* ($H_e = 0,856$; Collevatti et al., 2001) foi maior que o de *H. speciosa* e de todas as outras espécies do Cerrado já estudadas. Um dos fatores que pode ter contribuído para este resultado, é o fato de *Caryocar brasiliense* ter sistema reprodutivo também do tipo alógamo. Estes resultados evidenciam a forte influência do sistema reprodutivo na composição genética das populações.

Quando os valores médios de diversidade genética (H_e), heterozigozidade observada (H_o), coeficiente de endogamia intrapopulacional (f) e riqueza alélica (Ar) foram comparadas por variedades botânicas, através do teste de permutação, essas estimativas não foram significativas, demonstrando que não há diferença desses parâmetros genéticos quando comparados por variedade. Esses resultados são consistentes com os Olevatti (2013) para a coleção de germoplasma da Universidade Federal de Goiás de *H. speciosa*.

Tabela 3.6 Caracterização genética de 28 populações de *Hancornia speciosa* baseados em sete locos microssatélites

População	N	A	Ar	He	Ho	F
HASgPIRGO	33	9,714	4,285	0,677	0,628	0,074*
HASgPORGO	32	7,124	3,471	0,640	0,615	0,040 ^{NS}
HASgMATGO	33	10,857	4,483	0,769	0,757	0,016 ^{NS}
HASgNATTO	32	11,285	4,366	0,673	0,591	0,124*
HASgPONTO	32	12,285	4,712	0,751	0,683	0,092*
HASgBRAMG	32	13,142	4,814	0,712	0,661	0,073*
HASgCOGMT	14	8,857	4,608	0,763	0,721	0,057*
HASgFANGO	18	10,285	4,731	0,761	0,690	0,096*
HASgFROMG	32	6,857	3,263	0,559	0,482	0,139*
HASgPEDMG	32	9,285	3,680	0,603	0,519	0,142*
HASgSELMS	33	8,142	4,105	0,689	0,542	0,215*
HASgMCAMG	19	9,000	4,330	0,715	0,584	0,187*
HASgMUTGO	6	4,571	4,571	0,765	0,821	-0,087 ^{NS}
HASgJARGO	32	9,428	4,395	0,726	0,652	0,104*
Média var. <i>gardinerii</i>	380	9,274	4,237	0,697	0,631	0,098*
HASpAPAGO	23	9,714	4,621	0,693	0,557	0,200*
HASpJARGO	32	12,428	4,892	0,776	0,759	0,022 ^{NS}
HASpMUTGO	26	11,142	4,761	0,760	0,717	0,059*
HASpFANGO	14	8,428	4,563	0,761	0,712	0,066*
HASpCOGMT	18	10,000	4,623	0,766	0,738	0,038 ^{NS}
HASpNIQGO	33	11,714	4,406	0,667	0,611	0,085*
Média var. <i>pubescens</i>	146	10,571	4,644	0,737	0,682	0,078*
HASsJAPMG	32	7,857	3,465	0,599	0,617	-0,031 ^{NS}
HASsPIPMG	33	11,428	4,726	0,746	0,544	0,274*
HASsROVBA	32	10,714	4,287	0,687	0,651	0,054*
Média var. <i>speciosa</i>	97	9,999	4,159	0,677	0,604	0,119*
HAScCHGMT	32	9,714	4,023	0,674	0,619	0,082*
HAScCAGMS	32	8,714	4,002	0,685	0,616	0,102*
HAScDIAMS	33	10,142	4,554	0,778	0,631	0,192*
HASgGCAMT	25	8,285	3,734	0,646	0,519	0,200*
HAScSTAMS	32	7,571	3,789	0,666	0,571	0,144*
Média var. <i>cuyabensis</i>	154	9,035	4,092	0,701	0,609	0,130
Média	-	8,918	4,295	0,704	0,636	0,099*

n: número médio de indivíduos analisados nas populações, *A*: número médio de alelos por loco polimórfico, *Ar*: riqueza alélica média, *He*: frequência esperada de heterozigotos, *Ho*: frequência observada de heterozigotos e *f*: índice de fixação intrapopulacional, * significativo para 5%, ^{NS} não significativo para 5%

Quando se correlacionam as medidas de diversidade genética (H_e e Ar) com a latitude e longitude, há evidências de que populações localizadas na borda da área de estudo apresentam maiores valores de H_e e Ar (H_e - $r = 0,346$ e p -valor = $0,043$; Ar - $r = 0,494$ e p -valor = $0,012$) (Tabela 3.7). O coeficiente de endogamia intrapopulacional (f) não apresentou nenhum padrão de distribuição geográfica, as correlações não foram significativas. Esses resultados são similares aos encontrados por Oliveira (2014) para cajuzinho do cerrado.

Tabela 3.7 Correlações lineares, com r de Pearson, entre parâmetros genéticos (H_o , H_e , Ar e f) de vinte e oito populações de *Hancornia speciosa* do Cerrado com a Latitude e a Longitude

Parâmetro	Correlação de Person (r)	
	Latitude	Longitude
H_e	0,346*	0,104
F	0,288	0,122
Ar	0,494*	0,289

* Valor de $p = 0,05$. Ar - riqueza alélica; H_e - diversidade genética; f - coeficiente de endogamia

3.3.3 Divergência genética entre variedades botânicas

A primeira análise da variância molecular (AMOVA) estimou a partição da diversidade genética total de forma hierárquica entre e dentro das variedades botânicas de *H. speciosa*, detectando uma estimativa global de $F_{ST} = 0,131$ ($p < 0,001$, com 5.000 permutações), ou seja 13,12% da variação total se encontra entre as populações, sendo que destes, apenas 2,75% referem-se à variação entre variedades (F_{CT}) e 10,37% à variação entre populações dentro de variedades (F_{SC}). Deste modo, para cada variedade, pode-se verificar que 89,63% da variância genética se encontram no componente intrapopulacional. Se for desconsiderado o efeito da variedade o componente da variância genética intrapopulacional passa a assumir um valor igual 86,88%. Assim, apesar da variação entre variedades ser significativa ($F_{CT} = 0,027$; $p=0,017$) a maior diferenciação está entre populações dentro de variedades ($F_{SC}= 0,104$; $p<0,001$) e em populações independentes das variedades ($F_{ST} = 0,131$; $p<0,001$) (Tabela 3.8).

Tabela 3.8 Análise de variância molecular (AMOVA) para 777 indivíduos de populações naturais de *Hancornia speciosa* com dados de 7 locos microssatélites. Os indivíduos foram avaliados quanto à variedade botânica as quais pertencem (*H. speciosa* var. *pubescens*; var. *gardnerii*; var. *speciosa*; var. *cuyabensis*)

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos Quadrados	Componentes de variância	Variância (%)
Entre variedades	3	133,023	0,074	2,75
Entre populações/dentro de variedades	24	425,981	0,278	10,37
Entre indivíduos/dentro de populações	749	1892,042	0,194	7,22
Dentro de indivíduos	777	1661,500	2,138	79,66
Total	1553	4112,546	2,684	100,00

Estudo realizado por DeBoer & Stacy (2013) com *Metrosideros polymorpha*, revelou uma variação genética significativa entre as variedades botânicas *polymorpha*, *glaberrima* e *incana* (2,77%) e 86,02% de variação entre populações dentro de indivíduos. Já os resultados de Braga (2015), ao analisar a variação genética hierárquica de jotojá do Cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*), mostraram que 82,03% da variação total foram encontrados na fonte de variação de indivíduos e 8,17% são explicados pelo componente entre as variedades botânicas.

Os baixos valores de estruturação da variabilidade genética entre variedades estão de acordo com o esperado, uma vez que as mesmas podem realizar fecundação cruzada entre si, sem impedimentos, permitindo a ocorrência de fluxo gênico atual entre as populações das variedades botânicas (Olevatti, 2013 e Costa, 2013). Neste sentido, uma explicação possível para a similaridade genética compartilhada entre as populações dessas variedades é o efeito fundador compartilhado por populações ancestrais, que está refletindo, portanto, um fluxo gênico histórico (Telles et al. 2010).

A segunda análise da variância molecular (AMOVA) foi utilizada para detectar a variação genética dentro e entre os grupos previamente estabelecidos pelo agrupamento Bayesiano do STRUCTURE com K=4 (resultados a seguir). Neste caso, os resultados revelaram 13,92% da variabilidade genética se encontra entre e dentro de grupos ($F_{ST} = 0,143$), e 86,08% dentro de populações (Tabela 3.9). Esses resultados são comuns quando se analisa outros trabalhos com espécies de fecundação cruzada (Brandão, 2008; Fernandes, 2008; Gillies et al., 1999, Goulart et al., 2005; Renau-Morata et al., 2005).

Na terceira análise, foram realizadas três AMOVAs comparativas entre as diferentes variedades botânicas. Os resultados são mostrados na Tabela 3.9 e evidenciam que não houve diferença significativa entre os grupos quando se agrupam os indivíduos das variedades *H. speciosa* var. *gardinerri* x demais ($F_{CT} = 0,005$; $p = 0,086$), *H. speciosa* var. *pubescens* x demais ($F_{CT} = -0,004$; $p = 0,872$) e *H. speciosa* var. *cuyabensis* x demais ($F_{CT} = 0,004$; $p = 0,214$) e que a maior variação ocorreu dentro de populações para todos os agrupamentos (> 80%). No entanto, quando se compara as populações que possuem indivíduos representantes da variedade *H. speciosa* var. *speciosa* com as populações que possuem representantes das outras variedades há uma variação genética significativa ($F_{CT} = 0,074$; $p < 0,0001$).

Esses resultados contrastam com os encontrados por Moura et al., 2008, que chegaram à conclusão que existe variação significativa detectada por marcador RAPD entre as variedades *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *gardinerii*, porém, não houve diferença significativa entre os grupos (*H. speciosa* var. *speciosa* x *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *gardinerii*). Ganga (2008) ao trabalhar com progênies da coleção de germoplasma de mangabeira observou também elevados níveis de variação fenotípica quanto à caracteres de frutos, em que a maioria dessa variação está entre populações e entre variedades botânicas. No entanto, os resultados deste trabalho tornam-se mais apurados, pois utiliza como marcador molecular os microssatélites, além de apresentar maior número de indivíduos por variedade botânica.

A proporção da variação genética entre as populações é similar para as estimativas de G_{ST} (0,120), R_{ST} (0,253) e F_{ST} (0,126) confirmando a estrutura genética entre as populações, assim como observado para *Swietenia macrophylla* King (LEMES et al., 2003), *Minquartia guianensis* Aubl. (FARIAS, 2010), *Carapa guianensis* (VERAS, 2011) com marcadores microssatélites. O valor de estruturação de populações embora seja considerado moderadamente alto (ver F_{ST} na Tabela 3.8) em todos os agrupamentos realizados, é muito semelhante aos encontrados na literatura para outras espécies de plantas do cerrado (Telles et al. 2001, Collevatti et al. 2001, Zucchi et al. 2005, Soares et al. 2008).

Assim, as AMOVAs evidenciaram uma pequena diferenciação genética entre as variedades botânicas de mangabeira, e isto é um dado importante para estudos

taxonômicos, pois esse polimorfismo infraespecífico pode influenciar no comportamento populacional desta espécie. Além do mais, a variedade botânica *H. speciosa* var. *speciosa* mostrou forte diferenciação genética entre todas as outras populações e isso sugere baixo fluxo gênico entre indivíduos dessa variedade com as demais.

Tabela 3.9 Análises de variância molecular comparativa das quatro variedades botânicas de *Hancornia speciosa* e do agrupamento gerado pela inferência Bayesiana

Grupos	Entre grupos			Entre populações dentro de grupos			Dentro de populações		
	Va	%	F _{CT}	Va	%	F _{SC}	Va	%	F _{ST}
Agrupamento Bayesiano	0,148	5,47	0,054	0,229	8,45	0,089	2,332	86,08	0,143
Var. <i>gardinerii</i> x demais var.	0,013	0,45	0,005 ^{ns}	0,346	12,36	0,124	2,440	87,18	0,123
Var. <i>cuyabensis</i> x demais var.	0,012	0,42	0,004 ^{ns}	0,349	12,47	0,125	2,441	87,11	0,129
Var. <i>pubescens</i> x demais var.	-0,012	-0,43	-0,004 ^{ns}	0,356	12,79	0,123	2,442	87,64	0,117
Var. <i>speciosa</i> x demais var.	0,220	7,43	0,074	0,302	10,19	0,110	2,442	82,37	0,184

Var = componente de Covariância, % = porcentagem da variância genética global e estatísticas F (F_{CT} , F_{SC} , F_{ST}) apropriado para cada nível de comparação. ^{ns} = não significativo.

Os valores de F_{ST} linealizado obtidos para cada par de populações pela AMOVA (Apêndice D) foram altos e significativos ($P < 0,0001$), evidenciando alta diferenciação genética entre as populações amostradas. Esses valores corroboram com as análises de variância molecular realizadas e mostram que a variedade *H. speciosa* var. *speciosa* é contrastante em relação as demais, juntamente com duas outras populações, Porto Nacional-TO e Natividade-TO, que apresentaram valores elevados de F_{ST} .

Com base na inferência Bayesiana, o método Evanno et al. (2005) indicou $K=4$ (média de $\ln[\Pr(X/X)] = -22402,067 \pm 4,06$) como sendo o número ideal de grupos que representam a diferenciação genética das populações (Figura 3.5). Embora as populações da variedade *H. speciosa* var. *speciosa* tenham originado um grupo separado, a formação de outros três grupos não muito claros evidenciam a alta diversidade genética dentro de cada população de *H. speciosa*. É possível observar ainda, que as populações *H. speciosa* var. *cuyabensis* também se agruparam, porém, juntamente com a população de Portelandia-GO, cujos indivíduos pertencem a variedade *H. speciosa* var. *gardinerri*. Quanto às variedades *H. speciosa* var. *gardinerri* e *H. speciosa* var. *pubescens* estas não formaram grupos nítidos (Figura 3.7).

Para obter resultados que discriminem melhor a estruturação genética existente, foi empregado também o segundo maior valor de ΔK ($K=3$) (Figura 3.5). Considerando $K=3$ (média de $\ln[\Pr(X/X)] = -22987,657 \pm 2,98$), foi possível confirmar a diferenciação existente entre a variedade *H. speciosa* var. *speciosa*, que estão mais afastadas geograficamente, e as demais variedades ocupando a região mais centro-periférica do bioma Cerrado (Figura 3.7). Esta diferenciação é esperada quando esta segue o padrão de isolamento por distância, como o obtido pelo do teste de Mantel (ver resultado a seguir).

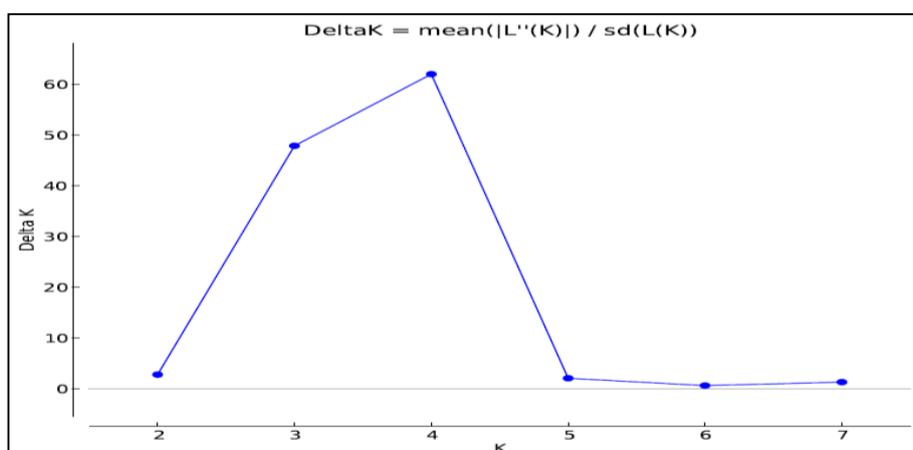


Figura 3.5 Valores de ΔK para o número de populações (K) mais verossímil. Dois é o número de populações mais provável

A análise de coordenadas principais (Figura 2.3) foi parcialmente concordante com a estrutura observada nas análises de agrupamentos e na AMOVA. Ela mostrou que 58% da variação está acumulada nos seus dois eixos, revelando a existência de variabilidade genética significativa entre as populações, indicando ainda, maior isolamento das populações da variedade *H. speciosa* var. *speciosa* e das populações de Fronteiras-MG, Perdizes-MG e Portelândia-GO. Além da proximidade das populações das variedades *H. speciosa* var. *gardinierii* e *H. speciosa* var. *pubescens*.

A distribuição dos indivíduos por meio da análise de PCoA, obtida pelo F_{ST} par a par (Apêndice D), foi consistente com os resultados da inferência Bayesiana. A análise mais criteriosa do gráfico de ordenação evidenciou que as populações da variedade *H. speciosa* var. *speciosa* se firmaram como as mais distantes das outras. Enquanto que, sobre

as demais, a homogeneidade dos seus parâmetros é alta a ponto de não permitir que a análise aqui utilizada discrimine grupos fracamente estabelecidos. Ainda que não tenha sido possível definir com clareza o número de grupos genéticos existentes nas populações, a estruturação genética foi corroborada pelo teste de atribuição dos indivíduos, no qual as populações de *H. speciosa* var. *speciosa* estão mais afastadas geneticamente das demais variedades. Paralelamente, os resultados da AMOVA hierárquica sugerem a presença de dois grupos genéticos distintos, confirmando novamente o grau de diferenciação das populações.

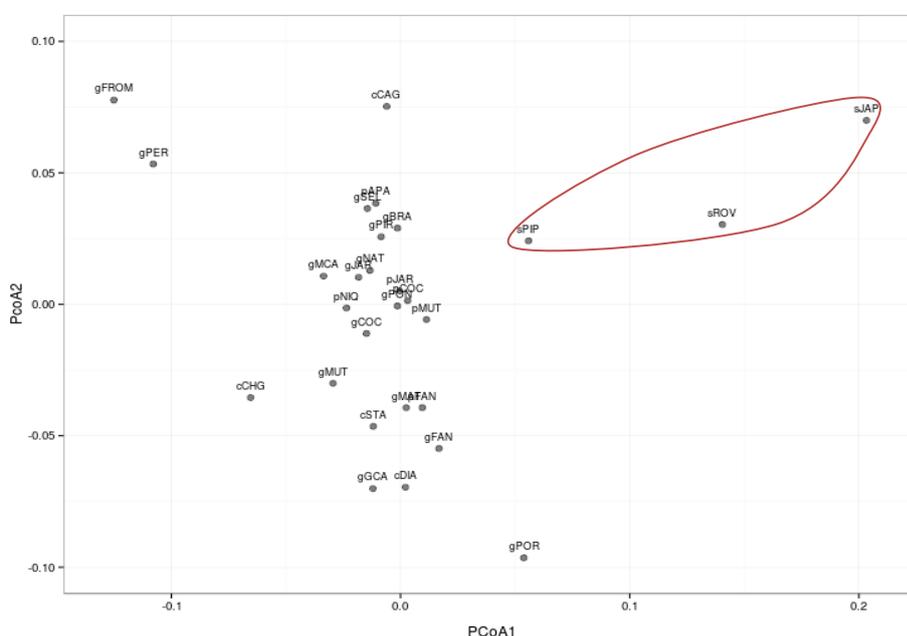


Figura 3.6 Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para 28 populações de *Hancornia speciosa* do Cerrado brasileiro utilizando marcadores microssatélites

A variação genética encontrada para as variedades botânicas é pequena quando comparadas com a grande variação fenotípica que essas variedades exibem no Cerrado (Ganga et al., 2009, 2010). Essa variação fenotípica pode ser explicada em parte pela plasticidade fenotípica que as variedades botânicas de mangabeira apresentam. A plasticidade fenotípica é um fenômeno comum entre as plantas (Hall et al., 1996; Pigliucci, 2001; Sultan, 2003; Schlichting & Wund, 2014; Forsman, 2015) e pode ser definida como a capacidade de um genótipo único exibir uma gama de fenótipos em resposta à variação no ambiente (Pigliucci, 2001).

Dessa maneira, a complexidade de ambientes do Cerrado pode favorecer a expressão da plasticidade fenotípica em resposta a heterogeneidade das condições ambientais em *Hancornia speciosa*. Assim, pela plasticidade fenotípica o organismo altera seu fenótipo sem a necessidade de que essas modificações sejam genéticas (Bradshaw, 1965 e Vlot & Bachmann, 1991). Freitas (2012) afirma que um pressuposto para o melhor entendimento e aplicabilidade deste fenômeno é o conhecimento quanto às estratégias da planta frente à heterogeneidade ambiental. Desta forma, estudos que venham a abordar variações anatômicas e histoquímicas de uma determinada da espécie em questão, frente a variações no ambiente, são pontos-chave para o conhecimento quanto às estratégias adotadas pela planta para se manter em ambientes diversos.

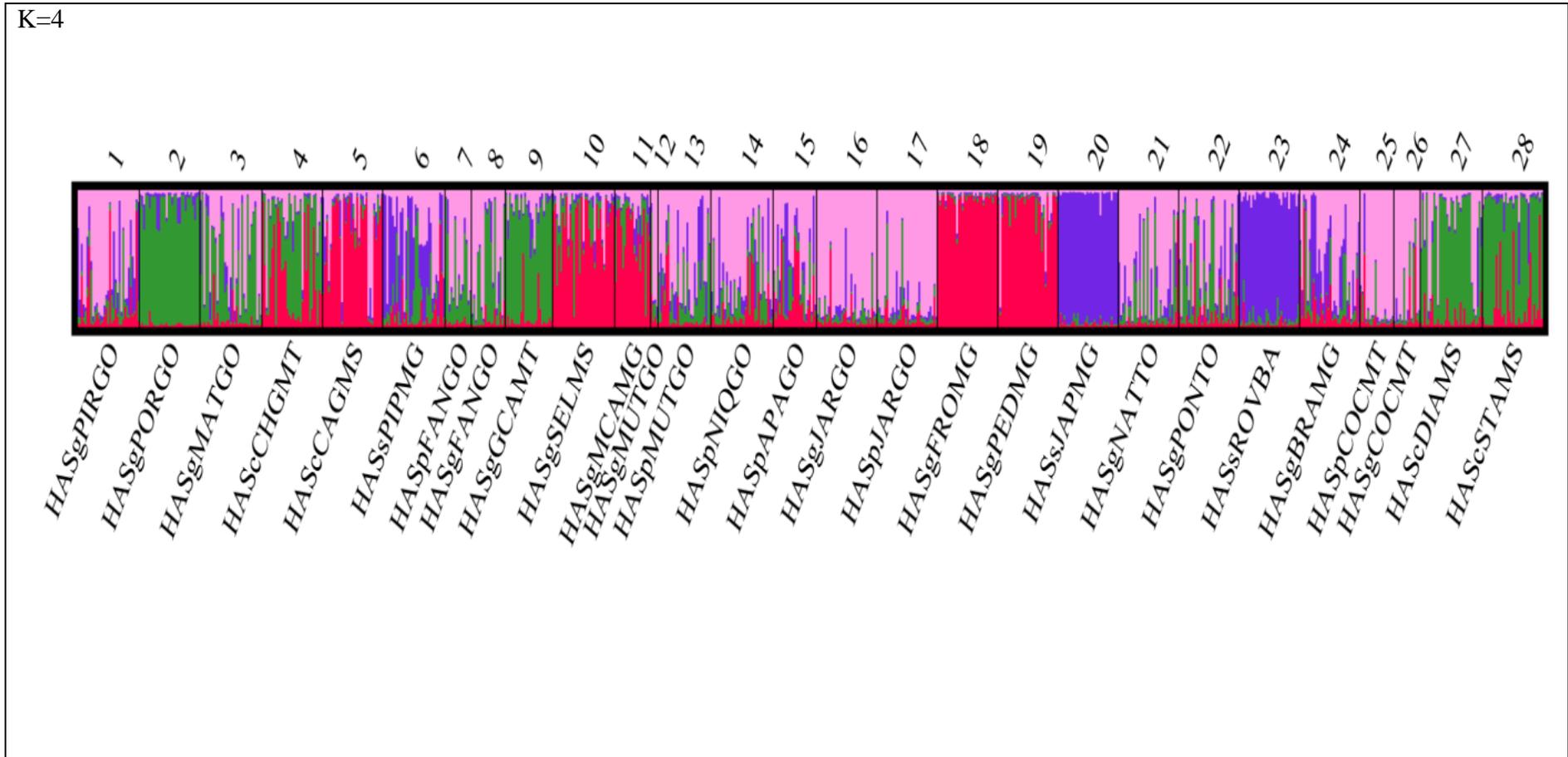


Figura 3.7 Atribuição de grupos genéticos para indivíduos de vinte e oito populações de *Hancornia speciosa* do Cerrado, com base na estatística Bayesiana. Cada linha vertical indica um indivíduo e as cores são os coeficientes de coancestria para cada grupo

3.4 CONCLUSÕES

- i. Existe elevada variabilidade genética, entre as populações de *H. speciosa* e entre os indivíduos dentro das variedades botânicas, para os marcadores microsatélites avaliados;
- ii. Os valores médios de diversidade genética, heterozigidade observada, coeficiente de endogamia intrapopulacional e riqueza alélica não foram significativos, demonstrando que não há diferença desses parâmetros genéticos quando comparadas as variedades botânicas de *H. speciosa*;
- iii. Apesar da variação genética entre variedades botânicas ser significativa, a maior diferenciação está entre populações dentro de variedades e em populações independentes das variedades;
- iv. A endogamia nas populações de *H. speciosa* é devida exclusivamente aos cruzamentos entre indivíduos aparentados, evidenciando o comportamento de forrageamento dos polinizadores e dispersores e do sistema de auto-incompatibilidade da espécie;
- v. Há uma variação genética significativa entre a variedade *H. speciosa* var. *speciosa* em relação às demais variedades botânicas de *H. speciosa*;
- vi. A variedade *H. speciosa* var. *speciosa* se apresenta com a variedade botânica geneticamente mais divergente, seguida da variedade *H. speciosa* var. *cuyabensis*;
- vii. A plasticidade fenotípica pode estar contribuindo para diferenciação fenotípica entre as variedades botânicas.

4 Capítulo 2: ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL E PADRÃO ESPACIAL EM *Hancornia speciosa* (APOCYNACEAE)

RESUMO

O conhecimento da variabilidade genética de populações naturais e o modo como essa variabilidade está estruturada dentro e entre essas populações é um dos principais temas da genética de populações de plantas. Tais estudos são importantes porque permitem a avaliação de processos microevolutivos e também servem como auxílio ao adotar estratégias de conservação (*in situ* e *ex situ*). Assim, o objetivo desse trabalho foi estimar a variabilidade e estrutura genética, bem como avaliar o padrão espacial da variabilidade entre populações de *Hancornia speciosa*. Neste estudo foram avaliadas 24 populações de mangabeira com o uso de sete locos de marcadores microssatélites. A partir da análise da variabilidade genética foram encontrados os seguintes resultados: em média, foram analisados aproximadamente 32 indivíduos por população, o índice de fixação (f) para cada população variaram de 0,042 a 0,157, com um valor global de 0,103, indicando excesso de homozigotos em relação às frequências esperadas sob EHW. As estatísticas F foram: $F_{ST} = 0,126$ ($R_{ST} = 0,253$), e $F_{IT} = 0,217$, mostrando que existe alta diferenciação genética entre essas populações, quando comparada com outras espécies tropicais. A análise do padrão espacial entre as populações foi realizada mediante técnicas de autocorrelação espacial e teste de Mantel, mostrando que a divergência genética das 24 populações avaliadas está estruturada no espaço ($r = 0,427$; $p < 0,001$), sugerindo processos estocásticos de divergência genética entre populações, como o modelo de isolamento-por-distância ou *stepping-stone*. Isso sugere maior similaridade genética entre indivíduos mais próximos do que entre os indivíduos mais distantes, favorecendo a agregação desses indivíduos em estrutura de famílias. Além disso, o modelo de isolamento-por-distância sugere equilíbrio entre os processos de dispersão e deriva para a estrutura genética espacial. As populações com distância de até 280 metros são mais semelhantes que o esperado ao acaso.

Palavras-chave: variabilidade genética, padrão espacial, microssatélites, estatísticas-F

ABSTRACT

Knowledge of the genetic variability of natural populations and how this variability is structured within and between populations is a major theme of the genetics of plant populations. Such studies are important because they allow the assessment of micro-evolutionary processes and also serve as an aid to adopt conservation strategies (*in situ* and *ex situ*). The objective of this study was to estimate the variability and genetic structure and evaluate the spatial pattern of variability among populations *Hancornia speciosa*. This study included 24 populations of mangabeira using seven microsatellite loci markers. From the genetic variability analysis the following results were found: on average, approximately analyzed 32 individuals per population, the fixation index (f) for each population ranged from 0.042 to 0.157, with a total value of 0.103, indicating excess homozygous with respect to the frequencies expected under HWE. The F statistics were $F_{ST} = 0.126$ ($R_{ST} = 0.253$), and $F_{IT} = 0.217$, showing that there is a high genetic differentiation between the populations compared with other tropical species. The analysis of spatial pattern among populations was performed using spatial autocorrelation techniques and Mantel test, showing that the genetic diversity of 24 populations assessed are structured in space ($r = 0.427$; $p < 0.001$), suggesting stochastic processes of genetic divergence between populations, such as the model insulation-per-distance or stepping-stone. This suggests greater genetic similarity between individuals closer than between more distant individuals, favoring aggregation of these individuals in family structure. Moreover, the model-by-insulation distance suggests balance between the dispersion and drift processes for the spatial genetic structure. Populations with distance up to 280 meters are more similar than expected by chance.

Keywords: genetic variability, spatial pattern, microsatellites, statistics-F

4.1 INTRODUÇÃO

A estrutura genética é definida, de acordo com Brown (1978), como sendo a forma pela qual a variabilidade genética é distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma população. Para Hamrick (1982) o desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética ocorrem devido às interações de um conjunto complexo de fatores evolutivos, como variação no conjunto gênico, organização desta variação dentro de genótipos, distribuição espacial dos genótipos, sistema de reprodução, seleção natural, deriva, mutação, eventos casuais e processos de crescimento, mortalidade e reposição dos indivíduos que darão origem as populações futuras. Todos esses fatores interferem na distribuição heterogênea, não aleatória, dos alelos e genótipos no espaço e tempo. Dessa forma, a estrutura genética de populações refere-se à heterogeneidade na distribuição dos genótipos e do grau de endogamia dentro e entre populações (Nason & Hamrick, 1997).

Há uma série de abordagens utilizadas para quantificar e visualizar a estrutura genética de populações: as estatísticas- F (Wright, 1951), diversidade gênica (Nei, 1973) e os coeficientes de coancestria de Cockerham (Cockerham, 1969). Em função do modelo de Wright (1950) e de Nei (1973) não considerarem o erro associado à amostragem, eles tendem a ser viciados, sendo tanto maiores quanto menor for o tamanho da amostra. Mas, as três metodologias possuem bases genéticas similares e se complementam em relação ao significado biológico das estimativas obtidas. Desta forma, as estatísticas- F permitem a caracterização da distribuição da variabilidade genética entre as populações (F_{ST}), dos níveis médios de endogamia ao nível populacional (F_{IS}) e da endogamia total (F_{IT}). Já os coeficientes de coancestria (θ) permitem a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de possibilitar a obtenção de estimativas de endogamia, a partir de uma base não viesada.

A análise dos padrões geográficos na variação genética tem sido uma das ferramentas mais importantes para compreender os processos ecológicos e evolutivos subjacentes a estrutura das populações e como eles geram a diversidade biológica (Diniz-Filho & Telles, 2002; Guillot et al., 2009; Wagner & Fortin, 2013). Além disso, o componente geográfico dos processos subjacentes a estrutura genética populacional e a diversidade implicam em quais estratégias de conservação deve se incorporar neste nível hierárquico (ou seja, de populações), garantindo uma representação mais abrangente da

variação intraespecífica (Diniz-Filho & Telles, 2002; Pearse & Crandall, 2004; Jose Alexandre Felizola Diniz-Filho et al., 2012). Medidas de diferenciação genética, obtidas pelo F_{ST} e outras estatísticas comparáveis (Neigel, 2002; Holsinger & Weir, 2009), relata implicitamente possibilidades de heterogeneidade espacial que possa ser responsável pela variabilidade genética (Diniz-Filho et al., 2014). Essas abordagens estatísticas são úteis para avaliar a estruturação genética populacional, além de indicar o quanto o fluxo gênico e a deriva genética contribuem para essa estruturação, sugerindo evidências de como o espaço geográfico pode interferir na subdivisão populacional.

A estrutura genética espacial em populações naturais de plantas, portanto, refere-se à distribuição espacial heterogênea dos genótipos nessas populações (Vekemans & Hardy, 2004) e geralmente é resultado de uma limitada dispersão de genes, via pólen e sementes (Moura et al., 2009). Estudos que avaliam os padrões espaciais da variação genética de uma espécie permitem inferir os prováveis processos microevolutivos que estão atuando na diferenciação genética dessas populações, fornecendo subsídios para trabalhos futuros de conservação, manejo e programas de melhoramento genético.

Análises que avaliam a estrutura genética espacial das populações trabalham com distâncias genéticas e geográficas e buscam avaliar como a variabilidade genética se organiza num contínuo geográfico (Diniz-Filho & Telles, 2002). Em teoria é esperado que populações próximas geograficamente tendem a ser semelhantes geneticamente, pois há mais trocas de alelos entre populações próximas, facilitadas pela dispersão e fluxo gênico intenso. Muitas metodologias estatísticas são aplicáveis para estudar dados que utilizam métricas de distâncias para responder a proximidade genética entre as populações e possibilita relacionar os padrões encontrados com processos ecológicos (Guillot et al., 2009).

Devido às dificuldades de amostragem em populações naturais, a maioria dos estudos de padrão geográfico da variação genética é limitada a um número relativamente pequeno de amostras a partir de uma distribuição geográfica restrita (Barbosa et al., 2015). Além do baixo poder estatístico esperado na estimativa de parâmetros, esta amostragem restrita pode fornecer estimativas tendenciosas de padrões geográficos na diferenciação das populações, levando inferências sobre processos ecológicos e evolutivos que conduzem padrões equivocados, e falha na definição de estratégias eficientes para a conservação da

diversidade genética. De fato, muitos estudos (Pan et al., 2014; Blakney et al., 2014; Zhihao & Mingli, 2014; Barbosa et al., 2015) têm tentado destacar a importância dos estudos de larga-escala para fornecer uma melhor compreensão sobre a relação do espaço geográfico nos processos de diferenciação populacional.

Há na literatura alguns estudos genético-populacionais relacionados à espécie *Hancornia speciosa* Gomes, que avaliam a diversidade e estrutura genética de populações dessa espécie. Martins et al. (2012) analisaram a diversidade e estrutura genética de seis populações naturais de *H. speciosa* do nordeste brasileiro mediante o uso de isoenzimas. Capinan (2007) estudou três populações de mangabeiras nativas oriundas de três regiões do Estado da Bahia, com 32 iniciadores RAPD. Já Moura et al. (2011) desenvolveu um trabalho com oito populações naturais de mangabeira no Cerrado provenientes de três regiões (Minas Gerais, Goiás e Bahia), avaliadas por marcadores moleculares RAPD. Amorim et al. (2015) avaliaram a diversidade genética e estrutura das populações remanescentes de mangabeira em três estados do Nordeste do Brasil (Ceará, Pernambuco e Sergipe), utilizando marcadores microsatélites para auxiliar no estabelecimento de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*. Nesses estudos foi encontrada alta diversidade genética, estrutura de populações e, em alguns desses trabalhos, uma forte correlação entre as distâncias genéticas e geográficas, coerente com o modelo microevolutivo de isolamento-por-distância. No entanto, todos esses trabalhos são estudos de pequena escala, com poucas populações de mangabeira e em microregiões.

O objetivo desse capítulo foi avaliar a variabilidade genética dentro e entre populações de *H. speciosa* em todo Cerrado brasileiro, bem como verificar se existe padrão espacial da variabilidade genética em uma escala regional, ao longo da área de distribuição geográfica da espécie.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Áreas amostradas

Foram coletadas 24 populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes oriundas de todo Cerrado brasileiro, totalizando 777 indivíduos, cerca de 32 indivíduos por população (Tabela 4.1). As localidades foram georeferenciadas conforme abaixo.

Tabela 4.1 Populações naturais de *Hancornia speciosa* amostradas para análise estrutura genética populacional

Localidades	Código	Nº	Longitude	Latitude
Serra do Jaraguá/GO	JARGO	64	-49,33523	-15,79572
Monte Carmelo/MG	MCAMG	19	-47,46069	-18,82050
Mutunópolis/GO	MUTGO	32	-49,22633	-13,63126
Porto Nacional/TO	PONTO	32	-48,35153	-10,66698
Cocalinho/MT	COCMT	32	-51,08346	-14,34140
Matrinchã /GO	MATGO	33	-50,92015	-15,20585
Portelândia/GO	POTGO	32	-52,66967	-17,15069
Pirinópolis/GO	PIRGO	33	-48,57330	-15,51900
Natividade/TO	NATTO	32	-47,61615	-11,93339
Faina/GO	FANGO	32	-50,36055	-15,44611
Brasilândia/MG	BRAMG	32	-46,06860	-17,24082
General Carneiro/MT	GCAMT	25	-53,01189	-15,57166
Selvíria/MS	SELMS	24	-51,52251	-20,44976
Perdizes/MG	PERMG	32	-47,36615	-19,35008
Fronteira/MG	FROMG	32	-49,15412	-20,23102
Niquelândia/GO	NIQGO	33	-48,76678	-14,47645
Alto Paraíso/GO	APAGO	19	-47,50294	-14,10448
Pirapora/MG	PIPMG	33	-45,36822	-17,47411
Roda Velha/BA	ROVBA	32	-45,86708	-12,58142
Japonvar/MG	JAPMG	32	-44,22866	-15,94000
Chapada dos Guimarães/MT	CHGMT	32	-55,78762	-15,36535
Campo Grande/MS	CAGMS	32	-54,17124	-20,48713
Diamantino/MT	DIAMT	32	-56,27594	-14,44881
Tangará da Serra/MT	TASMT	32	-57,97515	-14,26609

4.2.2 Amostragem genética

A obtenção dos dados moleculares foi realizada no laboratório de Genética & Biodiversidade da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, Goiás. O DNA genômico foi extraído a partir do tecido foliar de cerca de 32 indivíduos adultos de cada população,

seguindo o protocolo de *Cationic hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*, CTAB proposto por Doyle & Doyle (1987). Em seguida, o DNA total foi quantificado e diluído. A quantificação foi realizada com o auxílio de um marcador de peso molecular (*Low DNA mass ladder* da Invitrogen®) em gel de agarose 1% e tampão para eletroforese TBE 1X. A diluição foi realizada para uma concentração de trabalho de 2,5ng μL^{-1} e armazenado a -20°C.

O método utilizado para detecção dos genótipos foi baseado na separação de fragmentos microssatélites (SSR) marcados com fluorocromos através de eletroforese capilar automatizada (ABI PRISM® 3500 *Genetic Analyzer* – *Applied Biosystems*). Os fragmentos microssatélites, amplificados via PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), são injetados em capilares finos, preenchidos com polímero, para, em seguida serem submetidos a uma eletroforese em alta voltagem. A tensão gerada causa o movimento dos fragmentos de DNA através do polímero, em direção ao pólo positivo. Durante o trajeto as amostras passam pela região do laser, onde a fluorescência é detectada.

Para as reações de amplificação via PCR foram utilizados sete pares de iniciadores de regiões microssatélites desenvolvidos por Rodrigues et al. (2015) e marcados com um dos fluorocromos: 6-FAM, HEX ou NED. As reações foram preparadas a partir de um coquetel de reagentes para um volume final de 15 μl , contendo cerca de 5ng μl^{-1} de DNA genômico, 1X Tampão da Enzima 10X; 0,25 mM dNTPs; 3,33 mg BSA; 0,156mM Iniciador *forward* ; 0,156mM Iniciador *reverse* e 1U de *TaqDNA* Polimerase. Para a amplificação do DNA o programa de termociclagem foi composto dos passos descritos a seguir: (1°) desnaturação do DNA a 94°C por 5 minutos; (2°) 94°C por 1 minuto; (3°) temperatura específica de anelamento do iniciador por 1 minuto; (4°) extensão da molécula pela enzima *TaqDNA* polimerase a 72°C por 1 minuto; (5°) 35 ciclos seguindo do 2° ao 4° passo; (6°) passo final de extensão de 45 minutos para finalizar os produtos amplificados.

Após a amplificação, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese capilar em sequenciador automático, sendo todo processo eletroforético realizado em um sequenciador ABI PRISM® 3500 *Genetic Analyzer* (*Applied Biosystems*). Os alelos foram nomeados com o auxílio do programa GeneMapper 3.5 (*Applied Biosystems*), utilizando o marcador padrão GeneScan™ 500 Rox™ Size Standard (*Applied Biosystems*).

4.2.3 Diversidade e estrutura genética das populações

A diferenciação genética entre as populações foi analisada através da análise da diversidade gênica em populações subdivididas de Nei (1973, 1977, 1987), que permite a comparação dos níveis de heterozigosidade entre e dentro das populações. Esta abordagem deriva-se da fórmula de diversidade gênica média total dada por $H_T = H_S + D_{ST}$, onde H_S é a diversidade gênica média dentro das populações, e D_{ST} é a diversidade gênica média entre as populações, com a diferenciação genética relativa entre populações sendo obtida por $G_{ST} = D_{ST}/H_T$. Os valores médios de H_T e H_S sobre todos os locos foram usados para calcular G_{ST} (Culley et al. 2002). Os cálculos foram realizados através do programa FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 1995, 2002).

Para a análise da estrutura genética entre as populações foram estimadas as estatísticas- F ou coeficientes de Wright (1951), segundo Weir & Cockerham (1984). Foram estimados os seguintes parâmetros: endogamia dentro da população relacionada ao sistema reprodutivo (F_{IS} ou f), endogamia causada pela subdivisão populacional (F_{ST} ou θ) e endogamia total (F_{IT} ou F).

Pelo fato das estimativas serem feitas com base em locos microssatélites, a diferenciação genética entre as populações também foi estimada pelo R_{ST} , estatística análoga ao F_{ST} baseada no modelo de mutação *stepwise* (Slatkin, 1995), uma vez que as mutações destes locos podem contribuir significativamente para a diferenciação das populações. Para a obtenção da estimativa do R_{ST} , foi utilizado o software $R_{ST-CALC}$ (Goodman, 1997) utilizando 10.000 *bootstraps* com o intuito de compará-lo com o valor de diferenciação populacional θ . A significância da hipótese do valor encontrado para o F_{ST} geral ser igual ao valor do R_{ST} foi testada por permutação, utilizando o programa SPAGeDI 1.2 (*Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity*) (Hardy & Vekemans, 2002).

A estimativa do número médio de migrantes por geração ou fluxo gênico aparente (Nm) foi feita utilizando o método indireto de estimativa da taxa de fluxo gênico entre populações, baseado no F_{ST} (Wright, 1951; Slatkin, 1987; Sork et al., 1999). O método considera o modelo de fluxo gênico em ilhas e equilíbrio entre migração e deriva, assumindo que todas as populações possuem a mesma taxa de fluxo gênico. Slatkin (1981) e Govindaraju (1989) distinguiram três categorias de fluxo gênico: baixo ($Nm < 0,25$

migrantes/geração), intermediário ($0,25 \leq Nm \leq 0,99$ migrantes/geração) e alto ($Nm \geq 1$ migrantes/geração). Quando o fluxo gênico é restrito, as populações tenderão a ter um menor tamanho efetivo e mais endogamia e, como resultado, uma maior probabilidade de se diferenciarem mais. Por outro lado, uma alta taxa de fluxo gênico homogeneiza as frequências alélicas entre populações, mesmo em presença de uma pressão de seleção intensa (Slatkin, 1985; Ohsawa et al., 1993).

4.2.4 Padrão espacial da estrutura genética

Para avaliar se a diferenciação genética das populações segue o padrão de isolamento por distância, foi realizada correlação linear (r de Pearson) entre as matrizes de distância geográfica (logaritmo natural) e distância genética (F_{ST} par a par linearizado) utilizando o teste de Mantel, o teste foi feito no programa SAM v. 4.0 (Rangel et al., 2010). No SAM também foi feito teste de Mantel multivariado e construído um correlograma, buscando explicar os efeitos da escala de distância geográfica na estruturação genética. A significância estatística das correlações foi estabelecida utilizando 10.000 permutações.

O padrão espacial em cada uma das frequências alélicas foi então avaliado através de procedimentos de autocorrelação espacial (Sokal & Oden 1978a, b, Diniz-Filho 1998), utilizando o estimador índice I de Moran. Este teste possui máximos para autocorrelações iguais a ± 1 , sendo interpretado da mesma forma que o teste de Mantel. Foi construído correlograma para as correlações das frequências alélicas em sete classes de distância (em Km), com os seguintes limites superiores, 127, 344, 485, 590, 701, 860 e 1224. Estas classes foram estabelecidas de modo a manter aproximadamente constante o número de populações conectadas em cada uma delas, tornando assim os índices I de Moran que compõem o correlograma comparáveis, e com erros de estimativa semelhantes. Esta análise foi realizada no programa R, com significância do teste realizada por 10.000 permutações.

4.2.5 Descontinuidades genéticas

O algoritmo de Monmonier (Monmonier, 1973) foi utilizado para observar as possíveis descontinuidades genéticas existentes na distribuição espacial da diferenciação genética entre as populações de *H. speciosa*. Este algoritmo necessita de matrizes de distâncias genéticas e geográficas para investigar barreiras espaciais que possam maximizar a diferenciação genética entre populações próximas (Manel et al., 2003). Assim, o algoritmo de Monmonier foi calculado, baseado nos valores de F_{ST} par a par, plotado na rede de Gabriel com o resultado obtido com a PCoA.

4.2.6 Detecção de sinais de gargalo genético

Para avaliar desvios em relação ao equilíbrio mutação-deriva que podem indicar *bottleneck* recente nas populações foi utilizado o software BOTTLENECK 1.2 (Cornuet & Luikart, 1996). Foi avaliada a existência de sinais de gargalo genético nas populações. Para análise, foram realizados testes para todas as populações e para os grupos atribuídos pela estatística Bayesiana. Nestas análises foi utilizado o teste de Wilcoxon (Cornuet & Luikart, 1996), que foi escolhido por ser o teste mais indicado em análises que utilizam menos de 20 locos. O teste é realizado com base no número de heterozigotos esperado sob o equilíbrio entre mutação e deriva (H_{eq}). A distribuição da H_{eq} é calculada com base na simulação da coalescência de n genes sob um modelo mutacional. A H_{eq} média então é comparada com a H_o para testar excesso ou déficit de heterozigosidade.

Três modelos diferentes de evolução de microssatélites foram utilizados, modelo de alelos infinitos (*infinite allele model – IAM*), modelo de mutação por passos (*step-wise mutation – SMM*) (Estoup et al., 2002) e o modelo de duas fases (*two-phased model – TPM*) que é um modelo intermediário entre os dois anteriores adequado para a maioria dos conjuntos de dados de microssatélite (Di Rienzo et al., 1994). Para o TPM, foram considerados 95% (Piry et al., 1999) e 70% (Hollatz et al., 2011) e 70% para SMM de mutações de passos únicos com uma variância entre múltiplos passos de 12, como sugerido pelos autores do programa (Piry et al., 1999). A significância foi obtida através do teste de Wilcoxon, mais robusto para amostras com pequeno número de *loci* polimórficos (< 20).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Diversidade genética e estrutura populacional

A heterozigosidade genética total (H_T), a heterozigosidade média dentro da população e a diversidade entre populações são mostradas na Tabela 4.2. O valor de H_T (0,798) foi superior aos valores observados para espécies arbóreas tropicas de ampla distribuição (ver Loveless & Hamrick, 1984; Hamrick & Godt, 1990; Loveless, 1992), o que demonstra elevada heterozigosidade nas populações de *H. speciosa*.

Segundo a análise de diversidade genética de Nei (1973) (Tabela 4.2) pode-se observar que a maior proporção da diversidade genética ocorre dentro das populações. Os valores de G_{ST}' , corrigidos para locos microssatélites, estimados por loco variaram entre 0,090 e 0,315, com um valor global de 0,128, muito próximo a estimada do F_{ST} (0,126). Assim, pode-se concluir que aproximadamente 13% da diversidade genética ocorre entre as populações, sendo que o restante dessa diversidade ($1 - G_{ST}'$), ou seja, 87%, ocorre dentro das populações.

Tabela 4.2 Diversidade Genética de Nei (1973) em 24 populações de *Hancornia speciosa*, para sete locos microssatélites

Loco	H_S	D_{ST}'	H_T'	G_{ST}'	$1-G_{ST}'$
Hs01	0,787	0,152	0,939	0,161	0,839
Hs05	0,824	0,116	0,940	0,123	0,877
Hs06	0,890	0,056	0,946	0,059	0,941
Hs08	0,830	0,085	0,915	0,093	0,907
Hs11	0,313	0,047	0,360	0,131	0,869
Hs16	0,853	0,084	0,937	0,090	0,910
Hs30	0,376	0,172	0,548	0,315	0,685
Todos	0,696	0,102	0,798	0,128	0,872

H_T' : diversidade total ($H_T' = H_S + D_{ST}'$); H_S : diversidade dentro das populações; D_{ST}' : diversidade entre as populações; G_{ST}' : proporção da diversidade que está entre as populações ($G_{ST}' = D_{ST}' / H_T'$) e $1 - G_{ST}'$: proporção da diversidade que está dentro das populações.

O índice de fixação dentro das populações (f) variou de 0,042 a 0,157 nos locos, apresentando um valor global de 0,103 ($p < 0,005$) (Tabela 4.3). Esse resultado revela que endogamia dentro de cada população foi significativa. O valor de f pode ser considerado alto para uma espécie com o sistema reprodutivo alógamo. Assim, a endogamia é decorrente, exclusivamente, do cruzamento entre indivíduos aparentados, já que a espécie apresenta sistema de auto-incompatibilidade. A endogamia total (F) de 0,217

indica que estas populações não estão se comportando como uma grande população panmítica.

A estimativa de F_{ST} ou θ , que mede o grau de estruturação da diversidade genética a partir das variâncias das frequências dos alelos e permite avaliar a magnitude do efeito histórico devido à atuação da deriva genética, mutação e fluxo gênico variou entre 0,061 e 0,310 nos locos, apresentando um valor global de 0,126 ($p = 0,0083$). Segundo a escala criada por Wright (1978), esse valor indica uma estruturação genética moderada. Nesse caso, 12,6% da diversidade encontra-se entre as populações amostradas, enquanto que 87,4% está dentro das populações. Esses valores são condizentes com os obtidos pelo G_{ST} . Tais resultados são compatíveis com os de outras populações da espécie estudadas anteriormente com marcadores microssatélites (Rodrigues, 2009; Amorin et al., 2015). Além disso, esses resultados concordam com diferentes estudos realizados com espécies tropicais, em que espécies que se reproduzem por alogamia e que têm dispersão de sementes e pólen a longas distâncias, mantêm a maior parte da sua variabilidade genética dentro das populações (Hamrick & Godt, 1990).

Tabela 4.3 Análise de variância de frequências alélicas, segundo Weir & Cockerham (1984), em 24 populações de *Hancornia speciosa*, para sete locos microssatélites

Loco	f	θ	F	R_{ST}
Hs01	0,157	0,157	0,290	0,358
Hs05	0,137	0,119	0,240	0,274
Hs06	0,078	0,061	0,134	0,168
Hs08	0,071	0,096	0,161	0,178
Hs11	0,042	0,125	0,054	0,086
Hs16	0,153	0,090	0,229	0,178
Hs30	0,088	0,310	0,371	0,544
Total	0,103	0,126	0,217	0,253
Limite Superior (IC 95%)	0,055	0,088	0,055	0,358
Limite Inferior (IC 95%)	0,138	0,182	0,238	0,245

Os valores de θ e R_{ST} , obtidos de uma análise multilocos, foram divergentes ($R_{ST} = 0,253$; $p < 0,001$ e $\theta = 0,126$; $p = 0,0083$), com o valor de R_{ST} maior do que o valor de θ . Diferentemente do encontrado por Moreira et al. (2010) em nove populações de *Coccoloba cereifera* em campos rupestres da Serra do Cipó em Minas Gerais, que encontraram valores semelhantes, mas com o valor de F_{ST} maior. Assim, pode-se afirmar que a taxa de mutação dos locos também contribuiu para a diferenciação das populações,

como indicado pela diferença significativa entre F_{ST} e R_{ST} (Hardy et al., 2003). De acordo com Slatkin (1995), as altas taxas de mutação dos locos microssatélites podem ser tão importantes como o fluxo gênico para definir a estruturação genética. O valor mais alto encontrado para R_{ST} sobre o F_{ST} em quase todos os locos (Tabela 4.3) corroborou o que foi proposto por Slatkin (1995), em que as estatísticas baseadas no modelo de infinitos alelos (F_{ST}) tendem a subestimar a diferenciação genética entre as populações. Contudo, os valores encontrados para os dois parâmetros foram próximos, com diferença para não inviabilizar o uso do F_{ST} na interpretação da estruturação genética das populações de *H. speciosa*.

Collevatti et al. (2001) também encontrou valor maior de R_{ST} para populações de *Caryocar brasiliense*, concluindo que as taxas de mutações nas regiões microssatélites sobrepôs a força da deriva genética e fluxo gênico para estruturação genética entre as populações. É interessante estimar a estatística de R_{ST} , pois quando comparado ao F_{ST} ajuda a inferir com mais acurácia qual o processo microevolutivo é responsável pela subdivisão encontrada (Balloux & Lugon-Moulin, 2002).

A alta diversidade genética entre as populações de *H. speciosa* avaliadas indica a necessidade de um número grande de áreas para a conservação *in situ*. Considerando os valores de F_{ST} estimados nesse trabalho e outras espécie do Cerrado, pode-se recomendar um esforço na amostragem do maior número possível de populações, mesmo que para isso seja restrita a amostragem dentro de populações (Trindade & Chaves, 2005; Chaves & Telles, 2006).

Os valores de F_{ST} par-a-par (ApêndiceD) menores que 0,04 foram observados entre Serra de Jaraguá-GO e Mutunópolis-GO (0,039), Brazilândia-MG e Pirinópolis-GO (0,030), Brazilândia-MG e Alto Paraíso-GO (0,029) e entre Faina-GO e Mutunópolis-GO (0,027), mostrando que as populações de Mutunópolis-GO e Faina-GO revelaram a menor distância genética observada. Já os maiores valores de F_{ST} par-a-par foram observados entre Japonvar-MG e Fronteira-MG (0,336), Japonvar-MG e Perdizes-MG (0,313), Japonvar-MG e Chapada dos Guimarães-MT (0,289) e entre Fronteira-MG e Portelândia-GO (0,273), sendo a maior distância genética encontrada entre as populações de Japonvar-MG e Fronteira-MG.

As estimativas indiretas do fluxo gênico podem ser fundamentadas nas estatísticas F de Wright e suas análogas, assumindo o modelo de ilhas. Entre as 24 populações de mangabeira, a média estimada do valor multiloco de θ foi de 0,126. Com isso, pode-se dizer que o fluxo gênico (Nm) médio entre as populações é de 1,73 indivíduos migrantes por geração, indicando uma taxa de migrantes entre as populações de grandeza alta. Neste caso, o fluxo gênico é a força evolutiva predominante na determinação das frequências alélicas, homogeneizando as populações. Nesse sentido, o fluxo gênico possui um papel importante na manutenção da variabilidade genética intrapopulacional, impedindo a divergência genética entre as populações devido à deriva e adaptação local (Slatkin, 1987). O maior fluxo gênico foi entre as populações de Mutunópolis-GO e Faina-GO ($Nm=9,11$) distantes entre si a cerca de 225 Km e entre as populações de Brazilândia-MG e Alto Paraíso-GO ($Nm=8,31$), distantes as 350 Km. Os menores valores de fluxo gênico foram entre as cidades de Japonvar-MG e Fronteira-MG ($Nm=0,49$) distantes a cerca de 706 Km. Estes valores podem ser considerados como indícios que as populações de mangabeira encontram-se em um processo de diferenciação.

4.3.2 Padrão espacial da variabilidade genética

A análise do padrão espacial (Figura 18) mostrou que a variabilidade genética avaliadas nas 24 populações está estruturada no espaço. O teste de Mantel indicou que as populações mais próximas espacialmente apresentam maior semelhança genética, uma vez que, a diferenciação genética está significativamente e positivamente correlacionada com a distancia geográfica (Teste de Mantel, $r = 0,321$; $p = 0,0058$, com 10.000 permutações). Esse valor baixo da correlação pode ser explicada pela presença de alelos raros nas populações (Diniz-Filho & Telles, 2002). Esses resultados sugerem processos estocásticos de divergência genética entre as populações, como o modelo de isolamento-por-distância ou *stepping-stone*.

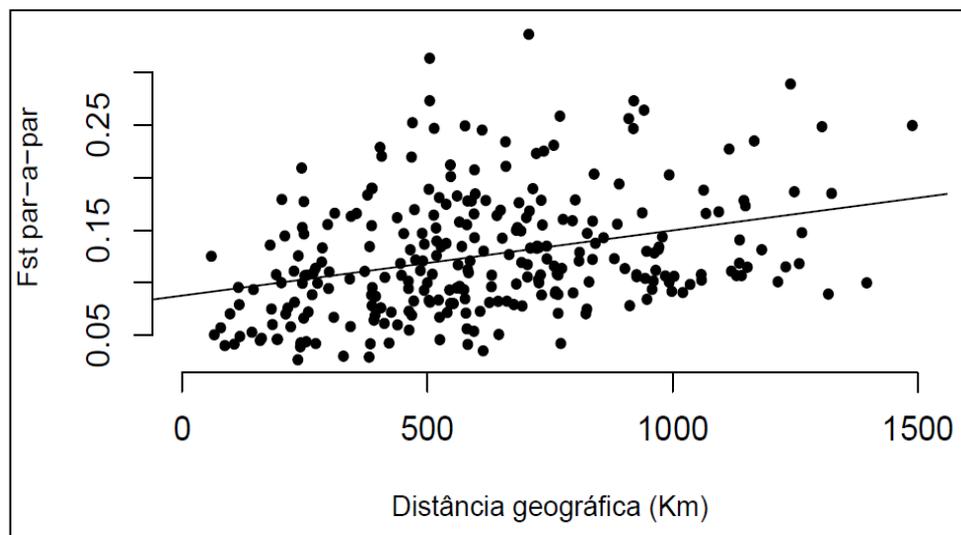


Figura 4.1 Relação entre as distâncias genéticas (F_{ST} par-a-par) e as distâncias geográficas entre 24 populações de *Hancornia speciosa*. A correlação matricial ($r = 0,325$; $p = 0,005$) foi significativa, segundo teste de Mantel utilizando-se 10.000 permutações

O correlograma de Mantel multivariado (Figura 4.2) mostrou relação significativa para as primeiras classes de distância, ou seja, até aproximadamente 280 km, e depois na quinta classe de distância. Dentro dessa decomposição que o correlograma oferece da distância geográfica, nota-se que as populações tendem a ser mais similares nas duas primeiras classes de distância em 280 Km e mais diferentes nas últimas classes de distâncias. Esses resultados mostram que, de fato, a distância geográfica parece influenciar na estruturação espacial da variabilidade genética entre as populações. Martins et al. (2012), trabalhando com isoenzimas em seis populações naturais de *H. speciosa*, encontraram valor de correlação de Person similar ao encontrado neste trabalho ($r = 0,3598$; $p = 0,0920$).

Apesar da relativamente baixa densidade da correlação entre duas matrizes, em comparação com outras espécies, como cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) (Telles et al., 2001), que mostrou $r = 0,72$ e Pau- papel (*Tibouchina papyrus*) (Telles et al., 2010), com $r = 0,71$, a correlação entre as populações de *H. speciosa* indicou que as distâncias genéticas e geográficas estão relacionados.

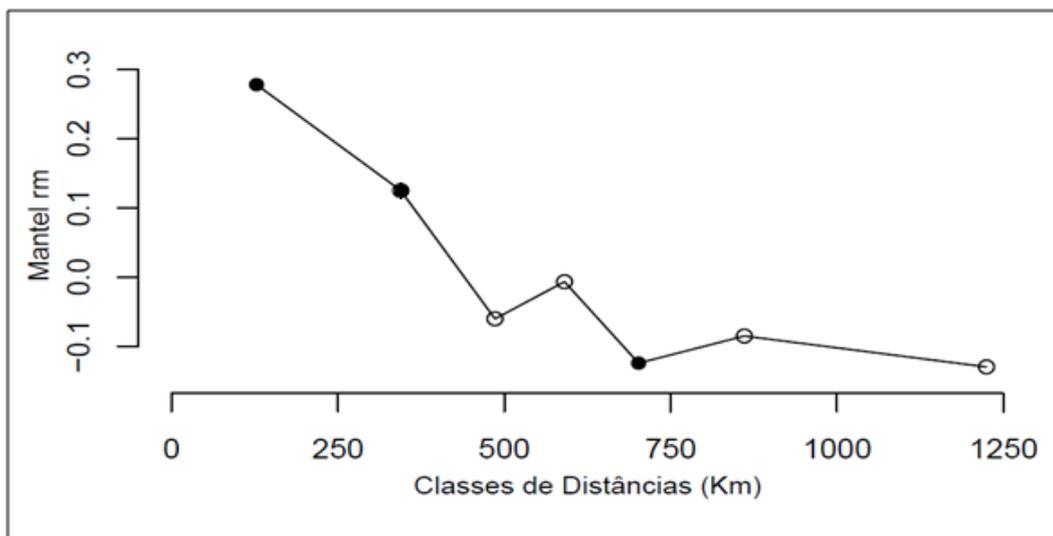


Figura 4.2 Correlograma de Mantel (sete classes de distância) e os respectivos valores de r (correlação de Pearson) para cada classe

Com isso, os padrões observados sugerem que o fluxo gênico é mais intenso em distâncias com aproximadamente 250 km, sugerindo que há equilíbrio entre migração e deriva genética e que a diferenciação genética segue o modelo de isolamento por distância. Com base nestes resultados, é possível definir grupos de populações a serem amostradas ou conservadas, com base na distância entre elas. Isso indica que, os quatro grupos genéticos identificados pela análise do Structure (ver capítulo 1) devem ser considerados como diferentes unidades de conservação. O padrão de diferenciação genética observado é compatível, ainda, com as características da biologia reprodutiva da planta, em que a polinização é feita principalmente por mariposas (Darrault & Schilindwein, 2006; Pinto et al., 2008). A polinização feita por estes insetos tem como característica fluxo restrito, pois o forrageamento ocorrem principalmente a curtas distâncias.

Com a análise de autocorrelação espacial das frequências alélicas foi gerado um correlograma espacial médio negativo e não significativo ($r_m = -0,0276$; $p = 0,952$) (Figura 21). Dos 833 índices I de Moran (119 frequências alélicas em sete classes de distância) obtidos de autocorrelação espacial apenas 62 foram significativos ao nível de 5%. O valor máximo de I de Moran encontrado foi igual a 0,845 e o mínimo foi -0,008. Os correlogramas médios em cada classe distância apresentaram coeficientes I de Moran baixos, resultando num correlograma médio geral com autocorrelação espacial quase nula,

mostrando que as frequências alélicas têm distribuição aleatória ao longo do espaço, com ausência de um padrão espacial nítido.

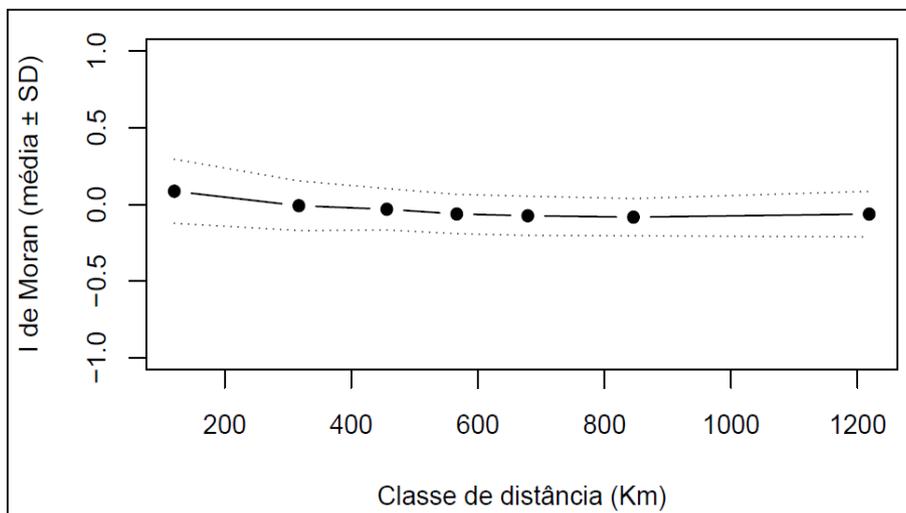


Figura 4.3 Correlograma médio dos valores I de Moran, obtido a partir da autocorrelação espacial das frequências alélicas de *Hancornia speciosa*, calculada com 10.000 permutações

Certamente, a pequena influência do componente geográfico, como foi visto pelo teste de Mantel, seja o motivo pelo qual a autocorrelação espacial das frequências alélicas entre os pares de localidades tenha sido tão baixa. Entretanto, o correlograma de Mantel identificou um padrão por isolamento por distância (Wright, 1943), pois a diferenciação genética, acessada pelo F_{ST} , diminui com o aumento da distância geográfica. Isso acontece porque diversos processos estocásticos podem influenciar nos padrões de diferenciação genética (Sokal & Jacquez 1989), além disso, a variação entre as variedades botânicas podem estar interferindo no padrão geográfico da espécie.

4.3.3 Descontinuidades genéticas

O algoritmo de Monmonier identificou descontinuidades genéticas entre as populações localizadas no extremo sul da área de distribuição do Cerrado, como visto na Figura 4.4. A descontinuidade genética foi estabelecida nas populações de Campo Grande-MS, Selvíria-MS e Portelândia-GO. O F_{ST} par a par médio dessas três populações em relação às demais é de 0,139, mostrando que elas estão entre as mais diferenciadas geneticamente.

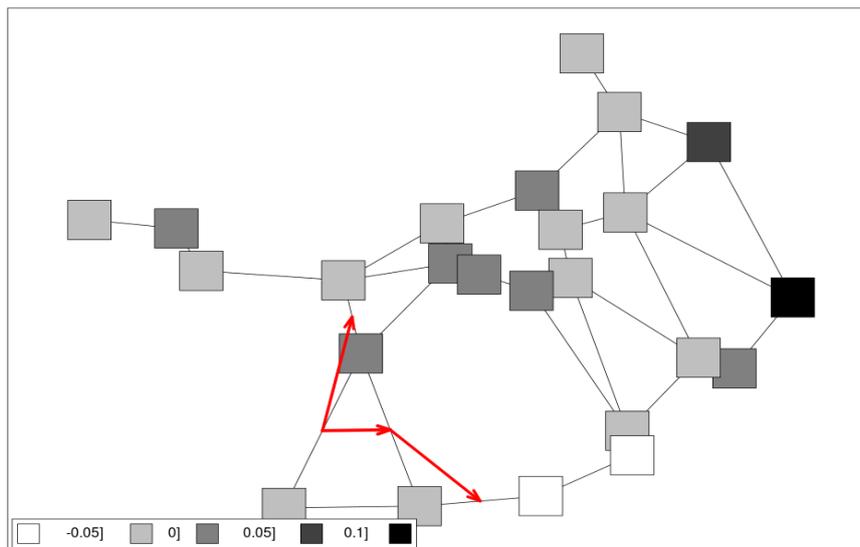


Figura 4.4 Descontinuidade genética de acordo com o algoritmo de Monmonier, destacado pela seta em vermelho, plotada na rede de Gabriel a partir do resultado encontrado na PCoA com os valores de F_{ST} par a par entre as 24 populações de *Hancornia speciosa*

4.3.4 Detecção de sinais de gargalo genético

Desvios significativos do equilíbrio de mutação e deriva genética foram testados por meio da adequação aos modelos de mutação de infinitos alelos (I.A.M.), *two-phase* (T.P.M.) e *stepwise* (S.M.M.) (Cornuet & Luikart, 1996; Luikart & Cornuet, 1998; Piry, 1999). Não foi constatado equilíbrio, indicando ocorrência de sinais significativos de gargalo genético, em nove populações de *H. speciosa*, Pirinópolis-GO, Chapada dos Guimarães-MT, Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Perdizes-MG, Japonvar-MG, Roda Velha-BA, Brazilândia-MG e Tangará da Serra-MS sob o modelo mutacional de *stepwise* (S.M.M.) e para duas supopulações, Fronteira-MG e Perdizes-MG, sob o modelo *two-phase* (T.P.M.). Para o modelo de infinitos alelos (I.A.M.) foram encontrados sinais de gargalo para cinco populações, Matrinchã-GO, Mutunópolis-GO, Serra de Jaraguá-GO, Cocalinho-MT e Diamantina-MS.

Para Luikart & Cornuet (1998) as populações que passaram por um recente processo de gargalo genético apresentam um excesso temporário de heterozigotos ($H_e > H_{eq}$). Isso foi observado em todas as populações apontadas acima, já que todas elas apresentam número significativo de locos em excesso de heterozigosidade, ou seja, a heterozigosidade esperada (H_e) pelos pressupostos de EHW nos locos é maior que a

heterozigosidade esperada sob equilíbrio entre mutação e deriva (H_{eq}). Consequentemente, em uma população que sofreu um recente processo de gargalo genético, espera-se que $H_e > H_{eq}$. Em decorrência de não se conhecer o histórico da área de estudo a causa da ocorrência de gargalos populacionais é desconhecida.

Tabela 4.4 Teste de Wilcoxon para detecção de gargalo genético em vinte e quatro populações *Hancornia speciosa*, utilizando teste de Wilcoxon sob três modelos mutacionais: modelo de infinitos alelos (I.A.M.), modelo de mutação *stepwise* (S.M.M.), modelo mutacional *two-phase* (T.P.M.) com proporção de 70% para S.M.M

População	I.A.M.	T.P.M.	S.M.M.
PIRGO	0,078	0,937	0,007*
PORGO	0,578	0,973	0,054
MATGO	0,007*	0,812	0,297
CHGMT	1,000	0,296	0,039*
CAGMS	0,109	0,937	0,078
PIPMG	0,078	0,812	0,468
FANGO	0,078	0,375	1,000
GCAMT	0,687	0,109	0,078
SELMS	0,054	0,937	0,297
MCAMG	0,687	0,687	0,297
MUTGO	0,015*	0,469	0,687
NIQGO	0,937	0,296	0,008*
APAGO	0,937	1,000	0,078
JARGO	0,015*	0,687	0,054
FROMG	0,937	0,015*	0,008*
PEDMG	0,578	0,023*	0,015*
JAPMG	0,468	0,109	0,015*
NATTO	0,825	0,468	0,296
PONTO	0,812	0,578	0,109
ROVBA	0,937	0,055	0,007*
BRAMG	0,686	0,297	0,041*
COCMT	0,015*	0,109	0,578
DIAMS	0,023*	0,567	0,546
STAMS	0,297	0,375	0,015*

*Significativo, $p < 0,05$

Van Rossum & Prentice (2004) e Nazareno (2009) avaliaram desvios significativos do equilíbrio de mutação e deriva de populações de *Silene nutans* e *Ficuss ssp.*, respectivamente, e encontraram sinais significativos de gargalo genético em várias populações, sendo interpretados como consequência da fragmentação das populações

resultante da perturbação humana nas regiões de ocorrência das espécies. Ao contrário, Bacles et al. (2004) para *Sorbus aucuparia* não observaram sinais de gargalos genéticos recentes, neste caso, os autores citam que há evidências de que a destruição de habitats na área de estudo é antiga, e os marcadores utilizados não foram capazes de detectar os gargalos genéticos mais antigos.

4.4 CONCLUSÕES

- i. Existe estruturação genética entre e dentro de populações, com a diferenciação genética entre populações de *H. speciosa* se apresentando moderada, sugerindo baixo fluxo gênico entre elas;
- ii. Existe um fraco padrão espacial na variabilidade genética encontrada nas populações de *H. speciosa*, sugerindo um modelo de diferenciação de isolamento-por-distância ou *stepping-stone*;
- iii. Houve sinais significativos de gargalo genético em nove populações de *H. speciosa*, Pirinópolis-GO, Chapada dos Guimarães-MT, Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Perdizes-MG, Japonvar-MG, Roda Velha-BA, Brazilândia-MG e Tangará da Serra-MS sob o modelo mutacional de *stepwise* (S.M.M.) e para duas subpopulações, Fronteira-MG e Perdizes-MG, sob o modelo *two-phase* (T.P.M.). Para o modelo de infinitos alelos (I.A.M.) foram encontrados sinais de gargalo para cinco populações, Matrinchã-GO, Mutunópolis-GO, Serra de Jaraguá-GO, Cocalinho-MT e Diamantina-MS.

5 **Capítulo 3: ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO *IN SITU* E *EX SITU* DE *Hancornia speciosa* (APOCYNACEAE)**

RESUMO

O Planejamento Sistemático da Conservação envolve uma série de etapas que devem ser realizados para determinar a maneira mais rentável para investir em ações de conservação. Neste sentido, o objetivo deste capítulo foi estabelecer estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* de uma única espécie, a *Hancornia speciosa*, uma espécie amplamente distribuída no Cerrado brasileiro, como um estudo de caso. Os dados para as análises consistiram em 157 alelos de sete loci microssatélites codificados para um total de 777 árvores individuais amostradas em 24 locais distribuídos ao longo do Cerrado. Como resultados, há oito populações a serem preservadas *in situ* (Fronteiras-MG e Diamantina-MS, Niquelândia-GO, Serra de Jaraguá-GO, Japonvar-MG, Natividade-TO, Roda Velha-BA e Cocalinho-MT). Outra estratégia apontada para seleção de áreas prioritárias para conservação *in situ* consistiu em selecionar a melhor solução com maior frequência de remanescentes ao redor das populações. Como resultado foram selecionadas Natividade-TO, Roda Velha-BA, Diamantina-MS, Chapada dos Guimarães-MT, General Carneiro-MT, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO, Pirapora-MG e Fronteira-MG como populações prioritárias para conservação. A coleção de germoplasma, uma estratégia de conservação *ex situ*, para esta espécie já existe, então também foi utilizado à abordagem do Planejamento Sistemático da Conservação para identificar o menor número de populações naturais que devem ser coletadas em campo para complementar a variabilidade genética da coleção existente. Dessa forma, Foi escolhida a melhor solução que possui a menor distância para Goiânia, facilitando a coleta de material. Neste caso, sete populações foram selecionadas para complementar a coleção de germoplasma: Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Mutunópolis-GO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT e Diamantina-MS e Serra de Jaraguá-GO.

Palavras-chave: Planejamento Sistemático da Conservação, Complementaridade, Cerrado, Microssatélites

ABSTRACT

Systematic Conservation Planning (SCP) involves a series of steps that should be accomplished to determine the most cost-effective way to invest in conservation action. Although SCP has been usually applied at the species level (or hierarchically higher), it is possible to use alleles from molecular analyses at the population level as basic units for analyses. In this sense, the aim of this chapter is to establish conservation strategies *in situ* and *ex situ* of a single species, the *Hancornia speciosa*, a species widely distributed in the Brazilian Cerrado, as a case study. The data for analysis consisted of 157 alleles seven microsatellite locus coded for a total of 777 individual trees sampled at 24 sites spread over the Cerrado. As a result, there are eight people to be preserved *in situ* (Fronteiras-MG e Diamantina-MS, Niquelândia-GO, Serra de Jaraguá-GO, Japonvar-MG, Natividade-TO, Roda Velha-BA and Cocalinho-MT). Another strategy aimed at selection of priority areas for conservation *in situ* consisted in selecting the best solution with higher frequency around the remaining populations. As a result were selected Natividade-TO, Roda Velha-BA, Diamantina-MS, Chapada dos Guimarães-MT, General Carneiro-MT, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO, Pirapora-MG and Fronteria-MG as priority populations for conservation. Germplasm collection, an *ex situ* conservation strategy, for this species already exists, so it was also used to the Conservation Systematic Planning approach to identify the lowest number of natural populations should be collected in the field to complement the genetic variability of the collection existing. Thus, the best solution was chosen that has the shortest distance to Goiania, facilitating the collection of material. In this case, seven population were selected to complement the germplasm collection: Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Mutunópolis-GO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT, Diamantina-MS and Serra de Jaraguá-GO.

Keywords: Systematic Conservation Planning, Complementarity, Cerrado, Microsatellite

5.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos países de maior biodiversidade no mundo, calcula-se que nada menos de 10% de toda a biota terrestre encontram-se no país (Mittermeier et al., 1998; Myers et al., 2000). Embora as estimativas de riqueza variem enormemente, o universo das espécies vegetais conhecidas para os principais grupos taxonômicos já é suficiente para colocar o país no primeiro lugar mundial em termos de espécies. Além do tamanho, o isolamento geográfico observado no passado remoto e a grande variação de ecossistemas seriam as razões que explicam tal biodiversidade (Machado et al., 2004).

No entanto, as modificações ambientais decorrentes do processo antrópico de ocupação dos espaços e urbanização vêm acontecendo em escala global, afetando inclusive o Brasil. Nos dois últimos séculos, as taxas de degradação se tornaram incompatíveis com a capacidade de suporte dos ecossistemas naturais, resultando em esgotamento dos recursos genéticos e poluição dos ecossistemas.

Dentro da biologia da conservação, a genética aparece como uma ferramenta essencial, cujo uso vem crescendo com o desenvolvimento de diferentes marcadores moleculares, tipos de aplicação, aumento da replicabilidade e rigor estatístico. A genética da conservação, assim, é motivada pela necessidade de reduzir as taxas atuais de extinções e pela preservação da biodiversidade (Frankham et al., 2008), tendo como objetivo a elaboração de estratégias conservacionistas e políticas públicas adequadas à conservação da biodiversidade (DeSalle & Amato, 2004). Assim, a genética da conservação pode ser utilizada na resolução de muitos problemas ambientais. Um de suas aplicações mais importantes é identificar fatores genéticos que possam levar uma população ou espécie a um estado de ameaça, analisando endogamia, tamanho efetivo populacional, variação genética e presença ou não de fluxo gênico. Desta forma, busca-se identificar padrões e processos que são relevantes para o manejo e conservação de populações ameaçadas (DeSalle & Amato, 2004).

A atual crise da biodiversidade forçou cientistas conservacionistas a desenvolver estratégias sistemáticas para alcançar efetivamente as metas de conservação, que visem resolver potenciais conflitos entre conservação e desenvolvimento humano

(Balmford et al., 2001; Araújo, 2003). O princípio geral destas estratégias encontra-se no Planejamento Sistemático da Conservação, que envolve uma série de etapas que devem ser realizados para determinar a maneira mais rentável para investir em ações de conservação (Margules & Pressey, 2000; Sarkar & Illoldi-Range, 2010). Em última análise, o Planejamento Sistemático da Conservação permite a melhor tomada de ações de conservação e uso da terra em diferentes escalas espaciais. Ele foi aplicado a uma série de conjuntos de dados para testar e melhorar os seus detalhes metodológicos, e utilizado na prática ações de conservação em algumas partes do mundo (ver Margules & Sarkar 2007).

Assim, a conservação dos recursos genéticos vegetais de uma espécie visa a manutenção da variabilidade genética de interesse atual e de potencial para o homem. Nesse contexto, de gestão da diversidade biológica, há duas estratégias para a conservação dos recursos genéticos que são complementares, a conservação *in situ* e *ex situ* (Rao & Hodgkin, 2002; Volis & Blecher, 2010). A escolha da estratégia depende de aspectos relacionados com as espécies, com os objetivos e as prioridades da gestão do programa de manejo.

A conservação *in situ* é a manutenção e recuperação dos recursos genéticos em seus habitats naturais (Rao & Hodgkin 2002). Já conservação *ex situ* é a manutenção de germoplasma fora do seu habitat natural, sem o risco de mudanças na sua composição genética (Karp et al., 1997; Vallois et al., 2001). Uma estratégia popular da conservação de recursos genéticos de uma espécie nativa são as coleções de germoplasma (Skinner et al., 1999). As coleções de germoplasma podem servir como um método de conservação *in vivo* e *ex situ*, em que amostras da variabilidade genética de certas espécies pode ser mantido fora do seu habitat natural (Scariot e Servilha 2007). Neste sentido, as coleções de germoplasma servem ao duplo propósito de prover material para o melhoramento no presente e conservar a diversidade genética para o futuro (Nass, 2001; Vallois et al., 2001). Alguns problemas surgem quando a definição de uma coleção de germoplasma, por exemplo, excesso de esforço na coleta de germoplasma, o enorme tamanho das coleções, os recursos financeiros limitados, a melhor maneira de selecionar as entradas usando dados de adesão complexas e incompletos, e como e quando revê-las decisões ao longo do tempo (Brown, 1989; Frankel & Brown 1984). Mesmo assim, coleções de germoplasma estão sendo adotadas como uma ferramenta útil para melhorar a conservação, acessibilidade e utilização dos recursos genéticos vegetais.

Neste contexto, a variação genética presente em uma espécie, essencial para sobrevivência e adaptação a possíveis mudanças do ambiente, é a base para programas de conservação genética. A compreensão dos padrões de distribuição da diversidade genética e o nível de diferenciação intra-específico é de fundamental importância para a definição de estratégias de conservação e uso sustentado desses recursos genéticos. Assim, o objetivo desse capítulo foi propor estratégias de conservação *in situ*, bem como complementar a coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* Gomes da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

5.2 MATERIALE MÉTODOS

5.2.1 Área de estudo e amostragem para proposta de conservação *in situ*

Para a definição das populações prioritárias para conservação *in situ*, foram coletadas 24 populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes oriundas de todo Cerrado brasileiro, totalizando 777 indivíduos, cerca de 32 indivíduos por população (Tabela 5.1 e Figura 5.1). As localidades foram todas georeferenciadas, suas distâncias em relação a Goiânia medidas e coletadas as proporções de remanescentes em torno de cada população.

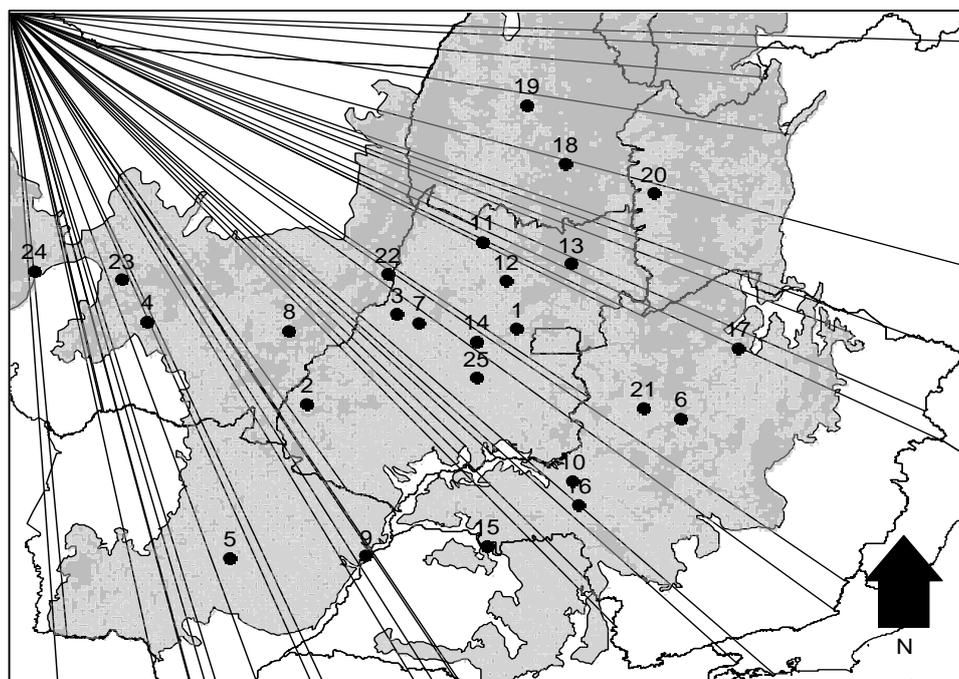


Figura 5.1 Mapa das localidades coletadas para proposta de conservação *in situ* e *ex situ*

Tabela 5.1 Relação das vinte e cinco populações de *Hancornia speciosa* distribuídas ao longo Cerrado, com respectivos códigos, proporção de remanescentes ao redor e distâncias em linha reta até Goiânia-GO

No.	Código	População	Proporção média de remanescentes	Distância em linha reta (Km) até Goiânia-GO
1	PIRGO	Pirinópolis-GO	0,36	144,43
2	PORGO	Portelândia-GO	0,41	359,84
3	MATGO	Matrinchã-GO	0,26	226,04
4	CHGMT	Chapada dos Guimarães-MT	0,73	697,78
5	CAGMS	Campo Grande-MS	0,20	675,69
6	PIPMG	Pirapora-MG	0,60	437,52
7	FANGO	Faina-GO	0,26	166,13
8	GCAMT	General Carneiro-MT	0,79	405,26
9	SEMS	Selvíria-MS	0,14	487,41
10	MCAMG	Monte Carmelo-MG	0,12	320,06
11	MUTGO	Mutunópolis-GO	0,28	327,29
12	NIQGO	Niquelândia-GO	0,47	241,68
13	APAGO	Alto Paraiso-GO	0,87	337,62
14	JARGO	Serra do Jaraguá-GO	0,24	87,55
15	FROMG	Fronteira-MG	0,02	403,95
16	PEDMG	Perdizes-MG	0,19	373,14
17	JAPMG	Japonvar-MG	0,57	550,76
18	NATTO	Natividade-TO	0,98	546,56
19	PONTO	Porto Nacional-TO	0,58	663,37
20	ROVBA	Roda Velha-BA	0,43	576,43
21	BRAMG	Brasilândia-MG	0,34	358,59
22	COCMT	Cocalinho-MT	0,54	308,91
23	DIAMS	Diamantina-MT	0,59	772,06
24	STAMS	Tangará da Serra-MT	0,49	950,35
25	COLGO	Coleção de germoplasma-GO	0,10	0

5.2.2 Área de estudo e amostragem para proposta de conservação *ex situ*

O trabalho de conservação *ex situ*, além da amostragem das populações naturais descritas anteriormente, também foi realizado com plantas de mangabeira da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), implantado em dezembro de 2005, em delineamento experimental de blocos completos casualizados. Os tratamentos são constituídos por progênies originadas de plantas nativas amostradas no Cerrado, abrangendo 28 populações das variedades botânicas *H. speciosa* var. *pubescens*, *H. speciosa* var. *gardnerii*, *H. speciosa* var. *speciosa* e *H. speciosa* var. *cuyabensis*.

A coleção de germoplasma está localizada no município de Goiânia, GO, cujas coordenadas geográficas são: latitude 16°35'12" S, longitude 49°21'14" W e 730 m de altitude. De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw (quente e semi-úmido, com estação seca bem definida de maio a setembro), com temperatura média de 22,3°C e umidade relativa do ar média de 87%. O solo é caracterizado como latossolo vermelho distrófico, de textura média e relevo suavemente ondulado (Brasil, 1992; Embrapa, 1999).

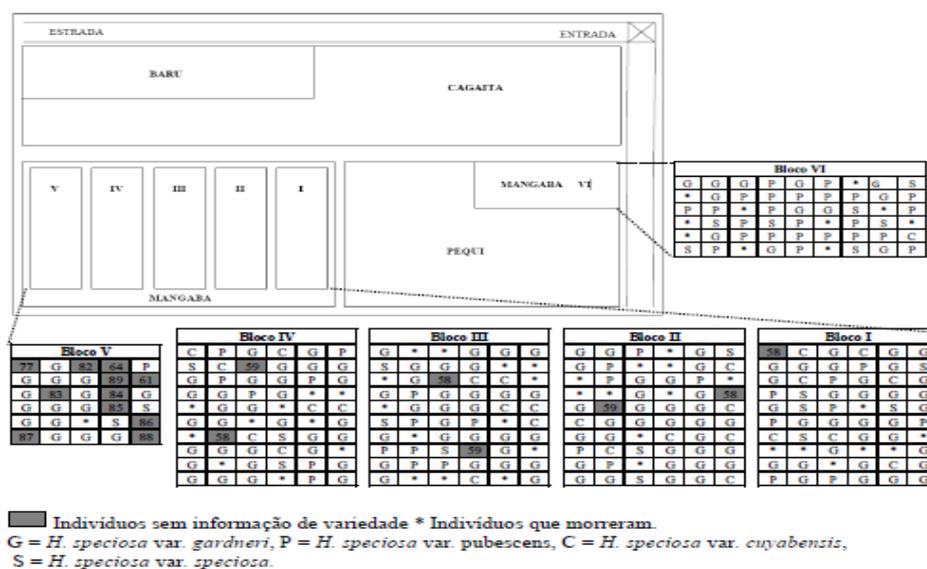


Figura 5.2 Coleção de frutíferas nativas do Cerrado da EA/UFG, demonstrando a disposição da coleção de *H. speciosa* e distribuição das plantas por variedade

5.2.3 Amostragem genética

A obtenção dos dados moleculares dos indivíduos de mangabeira, tanto das populações naturais, quanto da coleção de germoplasma foram realizadas no laboratório de Genética & Biodiversidade da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, Goiás. Os dados moleculares da coleção de germoplasma foram coletados por Olevatti (2013). O DNA genômico foi extraído a partir do tecido foliar de cerca de 32 indivíduos adultos de cada população, seguindo o protocolo de *Cationic hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*, CTAB proposto por Doyle & Doyle (1987). Em seguida, o DNA total foi quantificado e diluído. A quantificação foi realizada com o auxílio de um marcador de peso molecular (*Low DNA mass ladder* da Invitrogen®) em gel de agarose 1% e tampão

para eletroforese TBE 1X. A diluição foi realizada para uma concentração de trabalho de 2,5ng μL^{-1} e armazenado a -20°C .

O método utilizado para detecção dos genótipos foi baseado na separação de fragmentos microssatélites (SSR) marcados com fluorocromos através de eletroforese capilar automatizada (ABI PRISM® 3500 *Genetic Analyzer* – *Applied Biosystems*). Os fragmentos microssatélites, amplificados via PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), são injetados em capilares finos, preenchidos com polímero, para, em seguida serem submetidos a uma eletroforese em alta voltagem. A tensão gerada causa o movimento dos fragmentos de DNA através do polímero, em direção ao pólo positivo. Durante o trajeto as amostras passam pela região do laser, onde a fluorescência é detectada.

Para as reações de amplificação via PCR foram utilizados sete pares de iniciadores de regiões microssatélites desenvolvidos por Rodrigues et al. (2015) e marcados com um dos fluorocromos. As reações foram preparadas a partir de um coquetel de reagentes para um volume final de 15 μl , contendo cerca de 5ng μl^{-1} de DNA genômico, 1X Tampão da Enzima 10X; 0,25 mM dNTPs; 3,33 mg BSA; 0,156mM Iniciador *forward* ; 0,156mM Iniciador *reverse* e 1U de *TaqDNA* Polimerase. Para a amplificação do DNA o programa de termociclagem foi composto dos passos descritos a seguir: (1°) desnaturação do DNA a 94°C por 5 minutos; (2°) 94°C por 1 minuto; (3°) temperatura específica de anelamento do iniciador por 1 minuto; (4°) extensão da molécula pela enzima *TaqDNA* polimerase a 72°C por 1 minuto; (5°) 35 ciclos seguindo do 2° ao 4° passo; (6°) passo final de extensão de 45 minutos para finalizar os produtos amplificados.

Após a amplificação, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese capilar em sequenciador automático, sendo todo processo eletroforético realizado em um sequenciador ABI PRISM® 3500 *Genetic Analyzer* (*Applied Biosystems*). Os alelos foram nomeados com o auxílio do programa GeneMapper 3.5 (*Applied Biosystems*), utilizando o marcador padrão GeneScan™ 500 Rox™ Size Standard (*Applied Biosystems*).

5.2.4 Seleção de áreas prioritárias para conservação *in situ*

A seleção de áreas prioritárias para conservação tem por objetivo identificar possíveis populações importantes, do ponto de vista da diversidade alélica, fornecendo

informações para trabalhos futuros que visam tomar decisões sobre delimitação de estratégias de manejo e conservação. Conforme apontado por (Diniz-Filho et al., 2012) os alelos encontrados nas populações naturais de mangabeira são os alvos da conservação. Assim, foi utilizado um algoritmo, implementado no software R, para atingir a meta inicial da conservação de encontrar o menor número de populações em que todos os alelos são representados pelo menos uma única vez. Como são possíveis várias soluções para este problema de minimização, foram desenvolvidas duas estratégias a fim de selecionar a melhor solução.

A primeira estratégia foi utilizar a frequência com que cada uma das 24 populações aparece em todas as soluções possíveis, que é chamada de “insubstituibilidade” (*irrepleceability*) (IRR). Um valor de IRR igual a 1 ocorre, por exemplo, quando há um alelo que só aparece em uma população, de modo que se essa população não é incluída na solução, ela “falha” no sentido de representar todos os alelos. Outra possibilidade para analisar todas as possíveis soluções de minimização foi usar um critério “externo”, ou seja, outra variável mensurada nas 24 populações, que permita escolher ou interpretar as soluções dadas pelo algoritmo. Neste caso, em termos de conservação *in situ*, uma idéia é que a solução escolhida contenha populações em locais bem preservados, com um maior número de remanescentes de vegetação natural. Os valores da proporção de remanescentes naturais foram calculados com um raio de 25 km ao redor das populações, a partir de um mapa de 4 km de resolução do MMA (ver Telles et al. 2003 para detalhes; Diniz-Filho et al. 2012), indicando assim o nível de vegetação natural em escala regional (como exemplo, na região em torno de Goiânia essa proporção de remanescente foi igual a 10%, mas no nordeste do Estado pode chegar a valores maiores do que 80%). As frequências de remanescentes naturais em torno das 24 populações (+ Goiânia, como população 25) estão listadas na Tabela 5.1. Assim, para cada uma das possíveis soluções, calculou-se a proporção média de remanescentes de vegetação natural, permitindo definir qual dessas soluções é a que possui maior proporção de remanescentes e que seria, portanto, mais interessante para conservação *in situ*.

5.2.5 Complementaridade da coleção de germoplasma da EA/UFG, uma estratégia de conservação *ex situ*

Uma análise diferente, porém, como o mesmo algoritmo, foi conduzida incluindo a coleção de germoplasma de mangabeira como sendo uma população preservada, uma metodologia também apontada por Diniz-Filho et al. (2012). Neste caso, o objetivo do algoritmo era buscar quais populações são necessárias para representar os alelos que não estão na coleção de germoplasma. Como também são possíveis várias soluções para este problema de complementaridade, foram desenvolvidas duas estratégias a fim de selecionar a melhor solução.

A primeira consiste na idéia de simplesmente excluir da matriz de frequências alélicas aqueles alelos que já se encontram na coleção, com base na insubstituibilidade (IRR). Uma segunda análise para complementaridade da coleção de germoplasma foi escolher a melhor solução possível, que apresenta a menor distância geográfica das populações naturais para a Goiânia, local da coleção (ver Tabela 5.1). Esse procedimento é importante no sentido de facilitar a coleta do material e reduzir gastos com transporte.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Seleção de áreas prioritárias para conservação *in situ*

Buscando todas as combinações possíveis de populações ($n^{24} = 16.777.216$ soluções), foi possível saber quais dessas combinações possuem o menor número de populações que representa todos os alelos amostrados, que são encontrados nas 24 populações naturais. Foram encontradas 69 soluções diferentes que atendem aos requisitos acima, com um mínimo de 9 populações necessárias para representar os 157 alelos. Como há mais de uma solução possível para o problema, duas estratégias foram conduzidas:

Na primeira estratégia as 69 soluções possíveis foram analisadas quanto a frequência com que cada uma das 24 populações aparece nas 69 soluções (IRR). Os valores de IRR para as 24 populações de mangaba, calculados a partir das 69 soluções mínimas estão listados na Figura 5.3.

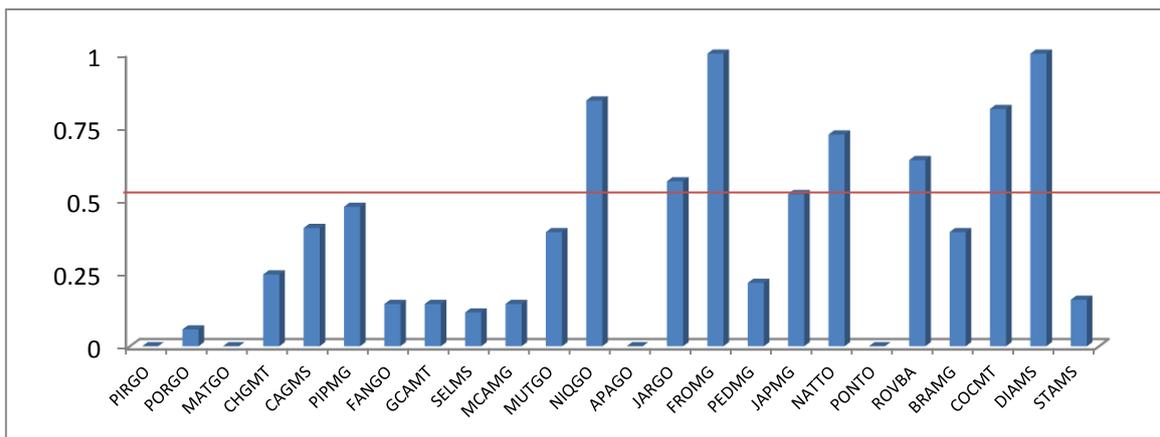


Figura 5.3 Frequência com que cada uma das 24 populações de *Hanconia speciosa* aparece nas 69 soluções (IRR)

Como resultados, há duas populações a serem preservadas (Fronteiras-MG e Diamantina-MS) com $IRR = 1$, e outras 6 populações (Niquelândia-GO, Serra de Jaraguá-GO, Japonvar-MG, Natividade-TO, Roda Velha-BA e Cocalinho-MT) com valores de IRR entre 0,9 e 0,5 (Figuras 5.3 e 5.4). Em geral os valores de IRR não foram muito elevados, consequência da baixa frequência de alelos raros. As soluções, por consequência, não são muito semelhantes, com um valor médio de coeficiente de Jaccard entre elas igual a 0.513 ± 0.162 .

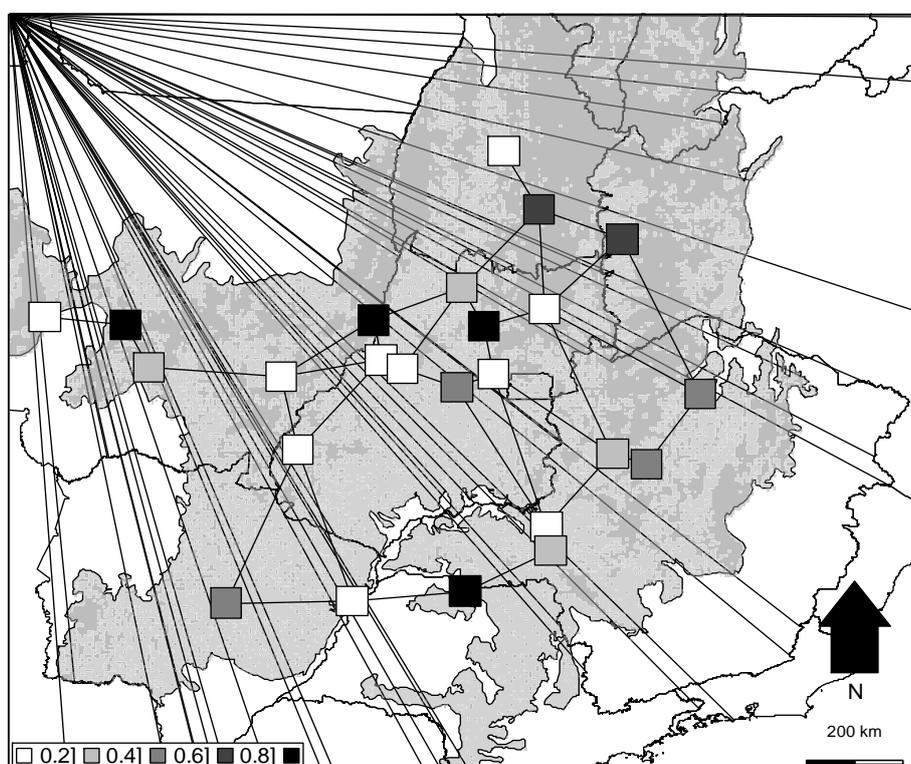


Figura 5.4 Mapa de populações prioritárias para conservação *in situ* de *Hanconia speciosa* baseada da insubstituibilidade

A outra estratégia apontada para seleção de áreas prioritárias para conservação *in situ* consistiu em selecionar a melhor solução com maior frequência de remanescentes ao redor das populações. Como resultado, para cada uma das 69 soluções possíveis, calculou-se a proporção média de remanescentes de vegetação natural, permitindo definir qual dessas soluções é a que possui maior proporção de remanescentes e que seria, portanto, mais interessante para conservação *in situ*. A solução encontra-se na Figura 5.5 e, em média, suas populações encontram-se em regiões com 57% de remanescentes de vegetação natural em um raio de 50 km de entorno.

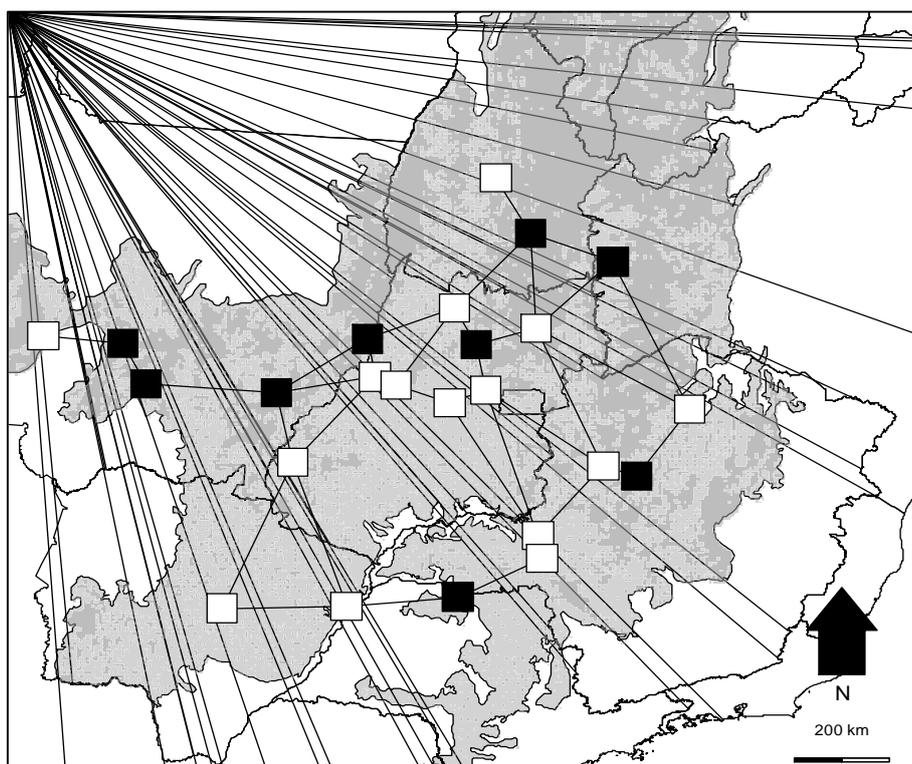


Figura 5.5 Mapa de populações prioritárias para conservação *in situ* de *Hancornia speciosa* baseada na máxima porcentagem de remanescentes

Neste caso, as populações selecionadas como prioritárias para conservação foram: Natividade-TO, Roda Velha-BA, Diamantina-MS, Chapada dos Guimarães-MT, General Carneiro-MT, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO, Pirapora-MG e Fronteira-MG (Figura 5.5). As duas estratégias empregadas para selecionar as melhores soluções de minimização coincidiram em priorizar cinco das 24 populações naturais: Natividade-TO, Diamantina-MS, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO e Fronteira-MG (Tabela 5.2).

Na Tabela 5.2 é possível perceber a população de Niquelândia-GO obteve o maior número médio de alelos por locus (11,714), seguido das populações de Natividade-TO (11,285) e Diamantina-MS (10,140). Foram observados também alelos privados em três populações prioritárias (DIAMS, FROMG e NATTO). A identificação de alelos privados é útil para aplicar na conservação genética e poder identificar populações que merecem manejo especial (Kalinowski, 2004). Já a heterozigosidade observada apresentou valores ligeiramente inferiores a diversidade gênica em todas as populações prioritárias, indicando excesso de homozigose. As diferenças encontradas entre as estimativas de H_e e H_o explicam o aparecimento de endogamia nas populações, mesmo estas apresentando alogamia e sistema de incompatibilidade (Caballero et al., 2010; Costa, 2013; Olivatti, 2013).

Tabela 5.2 Populações prioritárias de *Hancornia speciosa* para conservação *in situ*

População Prioritária	N	A	Ar	H_e	H_o	f
1 ^a NATTO	32	11,285	4,366	0,673	0,591	0,124*
2 ^a DIAMS	33	10,142	4,554	0,778	0,631	0,192*
3 ^a NIQGO	33	11,714	4,406	0,667	0,611	0,085*
4 ^a COCMT	33	10,000	4,623	0,766	0,738	0,038 ^{NS}
5 ^a FROMG	32	6,857	3,263	0,559	0,482	0,139*

Com relação às estratégias de conservação de recursos genéticos *in situ*, a preocupação da Genética de Populações, não é só entender a ação dos mecanismos microevolutivos que condicionam a estrutura populacional, como o fluxo gênico, deriva genética, sistema de cruzamento. Mas, sua preocupação vai além, como por exemplo, detectar as restrições tanto de natureza genética e ecológica, quanto de ação humana, às possibilidades de evolução contínua e de aparecimento de novas estratégias adaptativas (Frankham et al., 2008).

As possibilidades de perda significativa de variabilidade genética, causadas pela atividade humana, principalmente devido à destruição de habitats, com conseqüente limitação do potencial evolutivo futuro de muitas espécies, estão cada vez mais presentes. Entretanto, embora se tenha, cada vez mais informações consistentes sobre o nível de variabilidade genética em populações naturais, principalmente a partir da utilização de técnicas de eletroforese, ainda pouco sabemos sobre as relações entre esta variabilidade e a adaptação e sobrevivência. A integração de métodos de abordagem, tanto genéticos como ecológicos, provavelmente nos permitirão compreender de maneira mais abrangente os

processos a que populações naturais estão submetidas, tornando possível estabelecer estratégias mais adequadas para a preservação das diferentes formas de vida.

5.3.2 Complementaridade da coleção de germoplasma da EA/UFG, uma estratégia de conservação *ex situ*

Buscando complementar a diversidade genética amostrada pela coleção de germoplasma, no qual a coleção se comporta como uma população preservada, foram excluídos 127 alelos, restando apenas 30 alelos para o teste de insubstituibilidade. Desse modo, foram obtidas 12 soluções que representam todos os 30 alelos com o menor número de populações (essas soluções possuem 7 populações), com uma similaridade média de 0.425 ± 0.146 . Os valores de IRR são os seguintes:

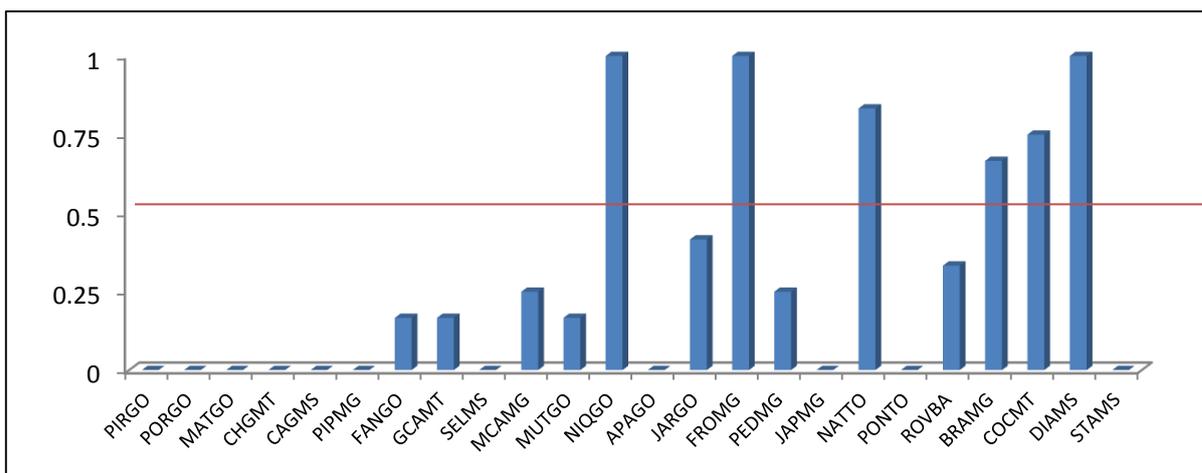


Figura 5.6 Frequência com que cada uma das 24 populações de *Hanconia speciosa* aparece nas 69 soluções (IRR)

Apenas seis populações apresentaram $IRR > 0,5$ e que, portanto, podem ser selecionadas para complementar a variabilidade genética da coleção de germoplasma de *H. speciosa*. Isto é apenas as populações de Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Natividade-TO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT e Diamantina-MS apresentaram frequência máxima de seleção, ou seja, aparecem em todas as soluções possíveis (Figura 5.7).

A outra estratégia foi escolher qual das 12 soluções possui a menor distância para Goiânia, facilitando a coleta de material. Neste caso, sete populações foram selecionadas para complementar a coleção de germoplasma: Niquelândia-GO, Fronteira-

MG, Mutunópolis-GO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT e Diamantina-MS e Serra de Jaraguá-GO (Figura 5.8).

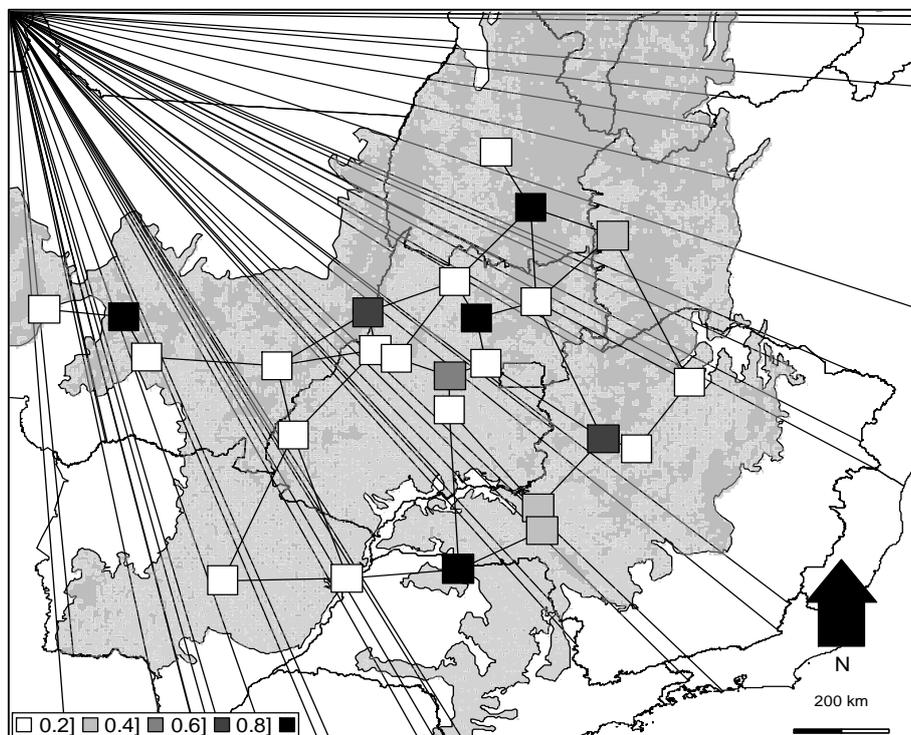


Figura 5.7 Mapa de populações prioritárias para complementaridade da coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* baseada na insubstituibilidade

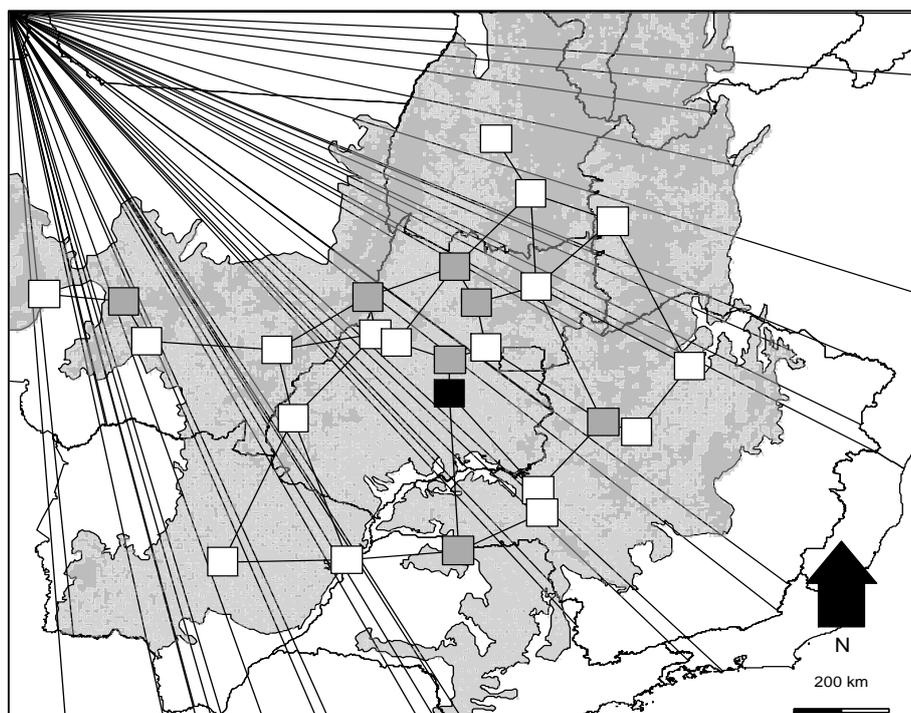


Figura 5.8 Mapa de populações prioritárias para complementaridade da coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* baseada na menor distância até Goiânia

Neste trabalho, foi possível projetar estratégias ideais de conservação da diversidade genética de *Hancornia speciosa* no âmbito *in situ* e *ex situ*. Diferentes estratégias de minimização das soluções possíveis foram feitas com base no mesmo conjunto de dados, embora com o uso de pesos distintos, revelando seus propósitos diferentes. Assim, entende-se que as estratégias de conservação *ex situ* e *in situ* podem ser implementadas em conjunto, de modo a aumentar a eficácia do planejamento conservacionista. Neste estudo, a variabilidade genética de populações naturais *H. speciosa* foi representada de tal maneira a conservar estrategicamente (*in situ*) todos os alelos conhecidos em oito populações naturais distribuídas ao longo do bioma Cerrado. Tentando diminuir os impactos humanos sobre as populações naturais, a variabilidade genética da mangabeira foi conservada estrategicamente considerando populações em regiões com mais remanescentes de cobertura natural, conservando outras nove populações, algumas coincidentes com a primeira estratégia. Definindo prioridades entre as populações amostradas, estas estratégias *in situ* podem ajudar no planejamento de uma agenda para intervenções de conservação da espécie como um todo. Além disso, supondo que a coleção de germoplasma da Universidade Federal de Goiás é uma população totalmente protegida, mostrou-se com este trabalho que é possível selecionar um conjunto de populações naturais que precisam ser amostradas para complementar a variabilidade genética conhecida, visando a sua conservação *ex situ*. Assim, foram selecionadas sete populações prioritárias para complementarem a coleção de germoplasma da espécie estudada.

As estratégias de Planejamento Sistemático da Conservação apresentam com objetivo a seleção de regiões prioritárias para conservação com base em diversos objetivos, com diferentes metas de conservação (Sarkar & Iloldi-Rangel, 2010). Uma aplicação inicial dessas estratégias de conservação sistemática, com dados genéticos, foi originalmente apresentada por Diniz-Filho & Telles (2006) e Diniz-Filho (2012). Estes autores propuseram como diferentes algoritmos poderiam ser utilizados para representar a diversidade genética de populações sob estruturas espaciais distintas. Essas análises, como a que foi apresentada aqui, sugerem que o Planejamento Sistemático da Conservação pode ser uma ferramenta bastante útil e objetiva para orientar as ações de conservação dentro da espécie, embora, naturalmente, melhorias adicionais podem ser importantes e mais trabalho é necessário para expandir as atividades de conservação.

Para Diniz-Filho (2012), uma questão importante a ser discutida a cerca dessas aplicações de estratégias de conservação é que elas se baseiam em marcadores moleculares neutros. Isso não reflete necessariamente características adaptativas que devem ser importantes para a persistência da população, ou as características que podem ser importantes para o aproveitamento econômico dessas espécies (ou seja, produção de frutas e de qualidade). No entanto, o principal objetivo dessas análises foi mostrar a possibilidade de desenvolver um plano de conservação sistemática baseada em dados genéticos. Claro que, se os dados adaptativos estiverem disponíveis, os mesmos procedimentos podem ser aplicados com mais robustez. Além disso, outros objetivos podem ser adicionados melhorando as possibilidades de persistência da população, o que poderia ser acoplado com as análises realizadas neste trabalho.

A questão mais importante levantada por essa análise é a possibilidade de aplicar os métodos de Planejamento Sistemático da Conservação para lidar com a variação genética da espécie, com base em abordagens distintas para estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*. Apesar de que muitas melhorias podem ser feitas para lidar com aspectos mais complexos dos dados genéticos (como lidar com as frequências alélicas e não com a presença-ausência de alelos e fazendo análises independentes para o *loci* distintos), as análises aqui apresentadas são um bom ponto de partida para o planejamento da conservação da diversidade genética de uma forma mais sistemática e objetiva.

5.4 CONCLUSÕES

- i. Como base na insubstituibilidade oito populações naturais podem são prioritárias para conservação *in situ* (Fronteiras-MG, Diamantina-MS, Niquelândia-GO, Serra de Jaraguá-GO, Japonvar-MG, Natividade-TO, Roda Velha-BA e Cocalinho-MT);
- ii. Com base na porcentagem de remanescentes, as populações selecionadas como prioritárias para conservação foram: Natividade-TO, Roda Velha-BA, Diamantina-MS, Chapada dos Guimarães-MT, General Carneiro-MT, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO, Pirapora-MG e Fronteira-MG;
- iii. A fim de complementar a variabilidade genética existente na coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG, foram selecionadas sete

populações naturais prioritárias para a coleta de germoplasma, nas regiões descritas a seguir: Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Mutunópolis-GO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT e Diamantina-MS e Serra de Jaraguá-GO.

6. CONCLUSOES GERAIS

- i. Existe elevada variabilidade genética, entre as populações de *H. speciosa* e entre os indivíduos dentro das variedades botânicas, para os marcadores microssatélites avaliados;
- ii. Apesar da variação genética entre variedades botânicas ser significativa, ela é muito baixa, estando a maior parte da diferenciação genética no componente entre populações, independentes das variedades;
- iii. A variedade *H. speciosa* var. *speciosa* se apresenta como a variedade botânica geneticamente mais divergente em relação às demais, seguida da variedade *H. speciosa* var. *cuyabensis*;
- iv. A plasticidade fenotípica pode estar contribuindo para diferenciação fenotípica entre as variedades botânicas;
- v. A alta diversidade genética entre as populações de *H. speciosa* avaliadas sugere a necessidade de um número grande de áreas para a conservação *in situ*;
- vi. Existe estruturação genética significativa entre e dentro de populações, com a diferenciação genética entre populações de *H. speciosa* se apresentando alta, sugerindo baixo fluxo gênico entre elas;
- vii. Existe um fraco padrão espacial na variabilidade genética encontrada nas populações de *H. speciosa*, sugerindo um modelo de diferenciação de isolamento-por-distância ou *stepping-stone*;
- viii. Nove populações naturais de *H. speciosa* foram selecionadas como prioritárias para conservação *in situ*: Natividade-TO, Roda Velha-BA, Diamantina-MS, Chapada dos Guimarães-MT, General Carneiro-MT, Cocalinho-MT, Niquelândia-GO, Pirapora-MG e Fronteira-MG;
- ix. A fim de complementar a variabilidade genética existente na coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG, foram selecionadas sete populações naturais prioritárias para a coleta de germoplasma, nas regiões

descritas a seguir: Niquelândia-GO, Fronteira-MG, Mutunópolis-GO, Brazilândia-MG, Cocalinho-MT e Diamantina-MS e Serra de Jaraguá-GO.

7. REFERENCIAS

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 24, p. 5177–88, 2008.

ALMEIDA, S. P. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998.

ALMEIDA, S. P.; SANO, S. M. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. **Cerrado: ambiente e flora**, 1998.

ALMEIDA, S. P.; COSTA, T. da S. A.; SILVA, J. A. da Frutas Nativas do Cerrado: Caracterização físico química e fonte potencial de nutrientes. *in*: **CERRADO ecologia e flora**. Ed. Sueli Matiko Sano, Semiramís Pedrosa de Almeida e José Felipe Ribeiro, v.1, cap.06, p.353-381; Embrapa Cerrados. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2008. 2 v. 1279 p.

ALVES, R. M.; ARTERO, A. S.; SEBBENN, A. M.; FIGUEIRA, A. Mating system in a natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum., by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 3, p. 373–379, 2003.

AMORIM, J. A. E.; MATA, L. R.; LÉDO, A. S.; AZEVEDO, V. C. R.; SILVA, A.V.C. Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 823–833, 2015.

AMOS, W.; HARWOOD, J. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 353, n. 1366, p. 177–186, 1998.

ARAÚJO, M. B. The coincidence of people and biodiversity in Europe. **Global Ecology and Biogeography**, v. 12, n. 1, p. 5–12, 2003.

AVISE, J. C. The history and purview of phylogeography: A personal reflection. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 4, p. 371–379, 1998.

Azevedo, V. C. R.; Kanashiro, M.; Ciampi, A. Y.; Grattapaglia, D. Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a heavily logged Amazonian timber species. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 7, p. 646–654, 2007.

- BACLES, C. F. E.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 3, p. 573–584, 2004.
- BAJAY, M. M.; ZUCCHI, M. I.; KIIHL, T. A. M.; BATISTA, C. E. A.; MONTEIRO, M. P.; BALDIN, J. Development of a novel set of microsatellite markers for Castor bean, *Ricinus communis* (Euphorbiaceae)1. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 4, p. e87–e89, 2011.
- BALLOUX, F.; LUGON-MOULIN, N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular ecology**, v. 11, n. 2, p. 155–65, 2002.
- BALMFORD, A.; MOORE, J. L.; BROOKS, T.; BURGESS, N.; HANSEN, L. A.; WILLIAMS, P.; RAHBK, C. Conservation conflicts across Africa. **Science**, v. 291, n. 5513, p. 2616–2619, 2001.
- BARBOSA, A. C. O. F.; COLLEVATTI, R. G.; CHAVES, L. J.; GUEDES, L. B. S.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C. Range-wide genetic differentiation of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) populations in Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 288–296, 2015.
- BARREIRA, S.; SEBBENN, A. M.; SCOLFORO, J. R. S.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade genética e sistema de reprodução em população nativa de *Eremanthus erythropappus* (DC .) MacLeish sob exploração. **Scientia Forestalis**, v. 71, p. 119–130, 2006.
- BATISTINI, A. P.; TELLES, M. P. C.; BERTONI, B. W.; COPPEDE, J.; MÔRO, F. V.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity of natural populations of *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) in the Cerrado of São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 1, p. 52–63, 2009.
- BERTONI, B. W.; ASTOLFI F. S.; MARTINS, E. R.; DAMIÃO F. C. F.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S.; TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Genetic variability in natural populations of *Zeyheria montana* Mart. from the Brazilian Cerrado. **Scientia Agricola**, v. 64, n. August, p. 409–415, 2007.
- BLAKNEY, J. R.; LOXTERMAN, J. L.; KEELEY, E. R. Range-wide comparisons of northern leatherside chub populations reveal historical and contemporary patterns of genetic variation. **Conservation Genetics**, v. 15, n. 4, p. 757–770, 2014.
- BLANCO, A. J. V.; PEREIRA, M. F.; COELHO, A. G.; CHAVES, L. J. Diversidade genética em populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart .) por meio de análises de sequências cpDNA. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 169–175, 2007.
- BRAGA, A. C.; REIS, A. M. M.; LEOI, L. T.; PEREIRA, R. W.; COLLEVATTI, R.G. Development and characterization of microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 1, p. 53–56, 2007.

BRAGA, R. **Genética Geográfica de *Hymenaea stagnocarpa*** (Fabaceae). 2015. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular)-Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Goiás. 2013.

BROOKFIELD, J. F. Y. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. **Molecular Ecology**, v. 5, n. 3, p. 453–455, 1996.

BROWN, A. H. D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 52, n. 4, p. 145–57, 1978.

BROWN, A. H. D. Genetic characterization of plant mating systems. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (Ed.). **Plant populations genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. 145-162 p.

BROWN, A. H. D.; WEIR, B. S. Measuring genetic variability in plant populations. In: ORTON, T. J. (Ed.). **Isozymes in Plant Genetics and Breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1983.

CAICEDO, A. L.; SCHAAL, B. A. Population structure and phylogeography of *Solanum pimpinellifolium* inferred from a nuclear gene. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 7, p. 1871–82, 2004.

CAPINAN, G. C. S. **Seleção de germoplasma de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) definidos por marcadores morfológicos e moleculares**. 2007. 152f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia. 2007.

CARNEIRO, F. S.; LACERDA, A. E. B.; LEMES, M. R.; GRIBEL, R.; KANASHIRO, M.; WADT, L. H. O. Effects of selective logging on the mating system and pollen dispersal of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae) in the Eastern Brazilian Amazon as revealed by microsatellite analysis. **Forest Ecology and Management**, v. 262, n. 9, p. 1758–1765, 2011.

CAVERS, S.; DEGEN, B.; CARON, H.; LEMES, M. R.; MARGIS, R.; SALGUEIRO, F.; LOWE, A. J. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. **Heredity**, v. 95, n. 4, p. 281–289, 2005.

CHAVES, L. J. Domesticação e Uso de Espécies Frutíferas do Cerrado. **Anais... 54^a** Reunião Anual da SBPC. Goiânia, 2002.

CHAVES, L. J. Recursos genéticos no cerrado. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Org.). **A cultura da mangabeira**. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 75-84.

CHAVES, L. J.; MOURA, N. F. Recursos Genéticos da Mangabeira no Bioma Cerrado In: Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba, 1. 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1CD ROM.

CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C. Cagaita. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. (Ed.). **Frutas nativas da região centro-oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. cap. 7. p. 120-134.

CIAMPI, A. Y.; AZEVEDO, V. C. R.; GAIOTTO, F. A.; RAMOS, A. C. S.; LOVATO, M. B. Isolation and characterization of microsatellite loci for *Hymenaea courbaril* and transferability to *Hymenaea stigonocarpa*, two tropical timber species. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 5, p. 1074–1077, 2008.

CLEGG, M. T. Measuring Plant Mating Systems. **BioScience**, v. 30, n. 12, p. 814–818, 1980.

CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001.

COCKERHAM, C. C. Variance of Gene Frequencies. **Evolution**, v. 23, p. 72–84, 1969.

COCKERHAM, C. C. Analyses of gene frequencies. **Genetics**, v. 74, n. 4, p. 679–700, 1973.

COELHO, A. S. G.; VALVA, F. D. O processo evolutivo e o melhoramento de plantas. In: NASS, L. L.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 58-78 p.

COLLEVATTI, R. G.; CASTRO, T. G.; SOUZA, L. J.; TELLES, M. P. C. Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 5, p. 1024–35, 2012.

COLLEVATTI, R. G.; BRONDANI, R. V.; GRATTAPAGLIA, D. Development and characterization of microsatellite markers for genetic analysis of a Brazilian endangered tree species *Caryocar brasiliense*. **Heredity**, v. 83, n. 6, p. 748–756, 1999.

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 349–356, 2001.

COSTA, C. F. **Estrutura genética intrapopulacional, sistema de cruzamento e dispersão de pólen em *Hanconia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*)**. 2013. 90 f.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. 2013.

COSTA, S. S. **Caracterização genética de populações naturais de cajujinho do Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz)** 2004. 70 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.

CORNUET, J. M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v. 144, n. 4, p. 2001–2014, 1996.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização de *Hancornia speciosa* (Apocynaceae). In: Simpósio Brasileiro Sobre a Cultura da Mangaba, 1. 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1CD ROM.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. (Ed.). **A Cultura da Mangaba**. Aracajú: Embrapa, 2006. v. 01, cap. 03, p. 253.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited fruit production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and pollination by nocturnal and diurnal insects. **Biotropica**, v. 37, n. 3, p. 381–388, 2005.

DE WOODY, J.A., SCHUPP, J.; KENEFIC, L.; BUSCH, J.; MURFITT, L.; KEIM, P. Universal method for producing ROX-labeled size standards suitable for automated genotyping. **Biotechniques**, v.37, p.348-352, 2004.

DEBOER, N.; STACY, E. A. Divergence within and among 3 Varieties of the Endemic Tree, “Ohi”a Lehua (*Metrosideros polymorpha*) on the Eastern Slope of Hawai’i Island. **Journal of Heredity**, v. 104, n. 4, p. 449–458, 2013.

DIAS, M. G. L.; MARANHÃO, T. O. Análise citogenética e palinológica quanto à viabilidade e morfologia em mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Biociências**, Taubaté, v. 1, p. 61-69, 1998.

DINIZ-FILHO, J. A. F. 1998. **Análise de autocorrelação espacial: inferências microevolutivas e aplicações em genética de populações**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto. Série Monografias 6:82-145. 1998.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; COLLEVATTI, R. G.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C. Geographical patterns of turnover and nestedness-resultant components of allelic diversity among populations. **Genetica**, v. 140, n. 4-6, p. 189–195, 2012.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; MELO, D. B.; OLIVEIRA, G.; COLLEVATTI, R. G.; SOARES, T. N.; NABOUT, J. C.; LIMA, J. S.; DOBROVOLSKI, R.; CHAVES, L. J.; NAVES, R.V.; LOYOLA, R. D.; TELLES, M. P. C. Planning for optimal conservation of

geographical genetic variability within species. **Conservation Genetics**, v. 13, n. 4, p. 1085–1093, 2012.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. D. C. Pattern-oriented modelling of population genetic structure. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 113, n. 4, p. 1152–1161, 2014.

DINIZ-FILHO, J. A.; TELLES, M. P. DE C. Spatial Autocorrelation Analysis and the Identification of Operational Units for Conservation in Continuous Populations. **Conservation Biology**, v. 16, n. 4, p. 924–935, 2002.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; RATTERS, J. A. Seleção de fragmentos prioritários para a criação de unidades de conservação do Cerrado no Estado de São Paulo. **Revista do Inst. Floresta**, v. 18, p. 23-37, 2006.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 2, p. 359–361, 2012.

ESTOUP, A.; JARNE, P.; CORNUET, J. M. Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 9, p. 1591–1604, 2002.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611–2620, 2005.

FELFILI, J. M.; SILVA, M. C.; SEVILHA, A. C.; FAGG, C. W.; WALTER, B. M. T.; NOGUEIRA, P. E.; REZENDE, A. V. Diversity, floristic and structural patterns of cerrado vegetation in Central Brazil. **Plant Ecology**, v. 175, p. 37–46, 2004.

FERES, J. M.; MARTINEZ, M. L. L.; MARTINEZ, C. A.; MESTRINER, M. A.; ALZATE-MARIN, A. L. Transferability and characterization of nine microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia roseo-alba*. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, n. 1, p. 434–437, 2009.

FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de frutos de Mangabeira para consumo *in-natura* e industrialização. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 9-14, 2007.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto: SBG - Sociedade Brasileira de Genética, 2008, 280 p.

- FORSMAN, A. Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. **Heredity**, v. 115, n. 4, p. 276–284, 2015.
- FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: SBG, 1992, 631 p.
- GANGA, R. M. D.; FERREIRA, G. A.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 101–113, 2010.
- GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progê;nies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, , n. 84, p. 395–404, 2009.
- GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruzdas Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMPF, 1993, p. 13-27.
- GOEDERT, C. O. Histórico e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 25-60 p.
- GOEDERT, C. O. Histórico e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 25-60 p.
- GOUDET, J. FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. **Journal of Heredity**, v. 86, p. 485–486, 1995.
- GOUDET, J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indice. , 2002.
- GOUVÊA, L. R. L.; RUBIANO, L. B.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; GONÇALVES, P. S. Genetic divergence of rubber tree estimated by multivariate techniques and microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, n. 2, p. 308–318, 2010.
- GOVINDARAJU, D. R. Variation in Gene Flow Levels among Predominantly Self-Pollinated Plants. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 2, n. 3, p. 173–182, 1989.
- GOWER, J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. **Biometrika**, v. 53, n. 3-4, p. 325–338, 1966.
- GUILHERME, D. O.; SANTOS, A. M.; DE PAULA, T. O. M.; ARAUJO, C. B.; DOS SANTOS, W. G.; ROCHA, S. L. R. L.; CALDEIRA JUNIOR, C. F.; MARTINS, E. R. Ecogeografia e etnobotânica da mangaba (*Hancornia speciosa*) no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Biociências**, Santa Catarina, v. 5, n. 1, p. 414-416, 2008.

GUILLOT, G.; LEBLOIS, R.; COULON, A. FRANTZ, A. C. Statistical methods in spatial genetics. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 23, p. 4734–4756, 2009.

HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. **Conservation Biology**, v. 10, p. 757–768, 1996.

HAMRICK, J. L. Plant Population Genetics and Evolution. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 10, p. 1685, 1982.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. **Plant Population Genetics Breeding and Genetic Resources**. p.43–63, 1990.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Effects of Life History Traits on Genetic Diversity in Plant Species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 351, n. 1345, p. 1291–1298, 1996.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W.; SHERMAN-BROYLES, S. L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests**, v. 6, n. 1-4, p. 95–124, 1992.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A. The Breeding Structure of Tropical Tree Populations. **Plant Species Biology**, v. 5, n. 1, p. 157–165, 1990.

HARDY, O. J.; CHARBONNEL, N.; FRÉVILLE, H.; HEUERTZ, M. Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. **Genetics**, v. 163, n. 4, p. 1467–82, 2003.

HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v. 2, n. 4, p. 618–620, 2002.

HARTL, D.; CLARK, A. **Princípios de Genética de Populações**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 660 p.

HOGAN, D. J.; CUNHA, J. M. C.; CARMO, R. L. Uso do solo e mudança de sua cobertura no Centro-Oeste do Brasil: consequências demográficas, sociais e ambientais. In: HOGAN, D. J.; HOGAN, D. J.; CARMO, R. L.; CUNHA, J. M. P.; BAENINGER, R. (org.). **Migração e ambiente no Centro-Oeste**. Campinas, NEPO/UNICAMP: PRONEX, 2002, p. 149-174.

HOLLATZ, C.; FLACH, L.; BAKER, C. S.; SANTOS, F. R. Microsatellite data reveal fine genetic structure in male *Guiana dolphins* (*Sotalia guianensis*) in two geographically close embayments at south-eastern coast of Brazil. **Marine Biology**, v. 158, n. 4, p. 927–933, 2011.

HOLSINGER, K. E.; WEIR, B. S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. **Nature reviews. Genetics**, v. 10, n. 9, p. 639–50, 2009.

JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. **Bioinformatics**, v. 23, n. 14, p. 1801–1806, 2007.

KAGEYAMA, P. Y.; DIAS, I. S. The application of genetic concepts to native forest species in Brazil. **Forest Genetic Resources Information**, Rome, n. 13, p. 1-11, 1985.

KALINOWSKI, S. T. Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs. **Conservation Genetics**, v. 5, n. 4, p. 539–543, 2004.

KARP, A.; EDWARDS, K. J.; BRUFORD, M.; FUNK, S.; VOSMAN, B.; MORGANTE, M.; SEBERG, O.; KREMER, A.; BOURSOT, P.; ARCTANDER, P.; TAUTZ, D.; HEWITT, G. M. Molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. **Nature biotechnology**, v. 15, n. 7, p. 625–8, 1997.

KARP, A.; KRESOVICH, S.; BHAT, K. V.; AYAD, W. G.; HODGKIN, T. **Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies**. Roma: IPGRI, 1997, 47 p.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707–713, 2005.

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D.; FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. **Molecular Ecology**, v. 10, n. 5, p. 1143–1152, 2001.

LAGE N. R. M.; LEMOS, F. J. P.; RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Phylogeography of *Plathymenia reticulata* (Leguminosae) reveals patterns of recent range expansion towards northeastern Brazil and southern Cerrados in Eastern Tropical South America. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 5, p. 985–998, 2010.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JUNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 35 p.

LI, Y. C.; KOROL, A. B.; F. T.; BEILES, A.; NEVO, E. Microsatellites: Genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: A review. **Molecular Ecology**, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002, 368 p.

LOVELESS, M. D. Isozyme variation in tropical trees: patterns of genetic organization. **New Forests**, v. 6, n. 1, p. 67–94, 1992.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 65–95, 1984.

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, v. 95, n. 4, p. 255–273, 2005.

LUIKART, G.; CORNUET, J.-M. Empirical Evaluation of a Test for Identifying Recently Bottlenecked Populations from Allele Frequency Data. **Conservation Biology**, v. 12, n. 1, p. 228–237, 1998.

MANEL, S.; SCHWARTZ, M. K.; LUIKART, G.; TABERLET, P. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 4, p. 189–197, 2003.

MARGULES, C. R.; SARKAR, S. **Systematic conservation planning**. Cambridge University Press, Cambridge, 2007.

MARTINS, G. V.; MARTINS, L. S. S.; VEASEY, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, E. F. Diversity and genetic structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1143–1153, 2012.

MARTINS, K.; CHAVES, L. J.; BUSO, G. S.; KAGEYAMA, P. Y. Mating system and fine-scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St.Hil. (Solanaceae) in the Brazilian Cerrado. **Conservation Genetics**, v. 7, n. 6, p. 957–969, 2006.

MCRAE, B. H.; BEIER, P. Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 50, p. 19885–90, 2007.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. 1998. Flora Vascular do Cerrado. Pp. 289-556. In: S. M. Sano & S. P. Almeida (eds). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, EMBRAPA-CPAC.

MITTERMEIER, R. A.; MYERS, N.; THOMSEN, J. B.; FONSECA, G. A. B.; OLIVIERI, S. Biodiversity Hotspots and Major Tropical Wilderness Areas: Approaches to Setting Conservation Priorities. **Conservation Biology**, v. 12, n. 3, p. 516–520, 1998.

MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (*Apocynaceae*). **Lilloa**, v. 11, p. 28-48, 1945.

MONMONIER, M. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. **Geog. Anal.**, v. 3, p. 245–261, 1973.

MORENO, M. A.; TARAZI, R.; FERRAZ, E. M.; GANDARA, F. B. Estrutura genética espacial em populações de *Hymenaea stigonacarpa* Mart. ex Hayne mediante a utilização

de marcadores microssatélites cloroplastidais. **Scientia Florestalis**, v. 37, p. 513-523, 2009.

MOREIRA, P. A.; FERNANDES, G. W.; COLLEVATTI, R. G. Fragmentation and spatial genetic structure in *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae) a seasonally dry Neotropical tree. **Forest Ecology and Management**, v. 258, n. 12, p. 2690-2695, 2009.

MOREIRA, R. G.; MCCAULEY, R.; CORTÉS-PALOMEC, A. C.; FERNANDES, G. W. OYAMA, K. Spatial genetic structure of *Coccoloba cereifera* (Polygonaceae), a critically endangered microendemic species of Brazilian rupestrian fields. **Conservation Genetics**, v. 11, n. 4, p. 1247–1255, 2010.

MORI, N. T.; MORAES, M. L. T.; MORITA, C. M.; MORI, E. S. Genetic diversity between and within populations of *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) mattos using microsatellite markers. **Cerne**, Lavras-MG, v. 18, n. 1, p. 9-15, 2012.

MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; VENKOVSKY, R.; NAVES, R. V.; AGUIAR, A. V. MOURA, M. F. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the cerrado region of Central Brazil. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 473–481, 2011.

MOURA, T. M.; SEBBENN, A. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; OLIVEIRA, G. C. X.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum spp.* do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. **Scientia Florestalis**, v. 37, n. 82, p. 143–150, 2009.

MOURA, T.M.; SEBBENN, A. M.; MARTINS, K.; MORENO, M. A.; OLIVEIRA, G. C. X.; CHAVES, L. J. KAGEYAMA, P. Y. Allelic diversity in populations of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) in a protected area and a disturbed environment. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 937–940, 2011.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

NASON, J. D.; HAMRICK, J. L. Reproductive and Genetic Consequences of Forest Fragmentation : Two Case Studies of Neotropical Canopy Trees. **Journal of Heredity**, v. 88, p. 264–276, 1997.

NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 29-56 p.

NAVES, R. V. **Espécies frutíferas nativas dos cerrados de Goiás: caracterização e influências do clima e dos solos**. 1999. 224 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

NEI, M. Genetic distance between populations. **The American Naturalist**, v. 106, p. 283–292, 1972.

NEI, M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 12, p. 3321–3323, 1973.

NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of human genetics**, v. 41, n. 2, p. 225–233, 1977.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583–590, 1978.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. Columbia University Press, 1987

NEIGEL, J. E. FST is obsolete? **Conservation Genetics**, v. 3, n. 2, p. 167–173, 2002.

OHSAWA, R.; FURUYA, N.; UKAI, Y. Effect of spatially restricted pollen flow on spatial genetic structure of an animal-pollinated allogamous plant population. **Heredity**, v. 71, p. 64–73, 1993.

OLIVATTI, A. M. **Avaliação da ocorrência e dos padrões de fluxo gênico contemporâneo em uma coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*)**. 2013. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. 2013.

OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, 2006.

OLIVEIRA, K. L. **Sistema reprodutivo, fluxo gênico e estrutura genética de *Anacardium occidentale* L. do Cerrado**. 2014. 205 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. 2014.

VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P. M.; SHIPLEY, P. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 535–538, 2004.

PAN, T.; WANG, H.; HU, C.; SHI, W. B.; ZHAO, K.; HUANG, X.; ZHANG, B. W. Range-wide phylogeography and conservation genetics of a narrowly endemic stream salamander, *Pachyhynobius shangchengensis* (*Caudata, Hynobiidae*): implications for conservation. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 2873–2885, 2014.

PEARSE, D. E.; CRANDALL, K. A. Beyond F_{ST}: Analysis of population genetic data for conservation. **Conservation Genetics**, v. 5, p. 585–602, 2004.

PEREIRA, M. F.; BANDEIRA, L. F.; BLANCO, A. J. V.; CIAMPI, A. Y.; COELHO, A. S. G. Development of microsatellite markers in *Annona crassiflora* Mart., a Brazilian Cerrado fruit tree species. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 6, p. 1329–1331, 2008.

- PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; JÚNIOR, J. F. D. S.; SILVA, D. B. D. Mangaba. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. (Ed.). **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. v. 1, cap. 12, p. 188-215.
- PEREIRA, V.A.; PEREIRA, E.B.C.; SILVA JÚNIOR, J.F. da; SILVA, D.B. da Mangaba. In: Frutas Nativas da região Centro-Oeste. R.F. Vieira et al. (eds.). cap.12, p.188-213. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.
- PIGLIUCCI, M. **Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture**. 2001.
- PINTO, C. E.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae). *Plant Biology*, **Stuttgart** v. 10, p. 408–412, 2008.
- PIRY, S. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, v. 90, n. 4, p. 502–503, 1999.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000.
- RABELO, S. G.; TEIXEIRA, C. F.; TELLES, M. P. C.; COLLEVATTI, R. G. Development and characterization of microsatellite markers for *Lychnophora ericoides*, an endangered Cerrado shrub species. **Conservation Genetics Resources**, v. 3, n. 4, p. 741–743, 2011.
- RANGEL, T. F.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. SAM: a comprehensive application for Spatial Analysis in Macroecology. **Ecography**, v. 33, n. 1, p. 46–50, 2010.
- RAO, V.; HODGKIN, T. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. **Plant Cell, tTissue and Organ Culture**, v. 68, p. 1–19, 2002.
- RAO, N. K. Plant genetic resources: advancing conservation and use through biotechnonology. **African Journal of Biotechnonology**, v. 3, n. 2, p. 136-145, 2004.
- RAPOSO, A.; MARTINS, K.; CIAMPI, A. Y.; WADT, L. H. O.; VEASEY, A. V. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. **Pesq. agropec. bras.**, v. 42, n. 9, p. 1291–1298, 2007.
- RIZZO, J. A.; FERREIRA, H. D. *Hancornia speciosa* no estado de Goiás. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36., 1985, Curitiba, PR. **Anais...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 1990. v.1, p. 363-368.
- DI RIENZO, A.; PETERSON, C. A.; GARZA, J. C.; VALDES, A. M.; SLATKIN, M. FREIMER, N. B. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human

populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 8, p. 3166–3170, 1994.

RODRIGUES, A. J. L.; YAMAGUISHI, A. T.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; LIMA, J. S.; TELLES, M. P. C. Development of microsatellite markers for *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 7274–7278, 2015.

ROSENBERG, N. A. distruct: a program for the graphical display of population structure. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 1, p. 137–138, 2003.

VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H. C. Structure of allozyme variation in Nordic *Silene nutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 81, n. 3, p. 357–371, 2004.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Eds.). **Cerrado: ecologia e flora**, Brasília: Embrapa, 2008, v. 1 e 2.

SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N. Criopreservação de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 231-280 p.

SAWYER, D. (2002). População, meio ambiente e desenvolvimento sustentável no cerrado. In: HOGAN, D. J.; CARMO, R. L.; CUNHA, J. M. P.; BAENINGER, R. (org.). *Migração e ambiente no Centro-Oeste*. Campinas, NEPO/UNICAMP: PRONEX, p. 279-299.

SCARIOT, A. O.; SEVILHA, A. C. Conservação *in situ* de Recursos Genéticos Vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. Introdução. In: SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. (coord.) **CERRADO: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005

SCHAAL, B. A.; HAYWORTH, D. A.; OLSEN, K. M.; RAUSCHER, J. T.; SMITH, W. A. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 4, p. 465–474, 1998.

SCHLICHTING, C. D.; WUND, M. A. Phenotypic plasticity and epigenetic marking: An assessment of evidence for genetic accommodation. **Evolution**, v. 68, n. 3, p. 656–672, 2014.

SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, 2000.

- SILVA, A. V. C.; RABBANI, A. R. C.; SENA-FILHO, J. G.; ALMEIDA, C. S.; FEITOSA, R. B. Genetic diversity analysis of Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 15, n. 2, p. 217–225, 2012.
- SILVA, M. A.; MELLO, J. M.; SCOLFORO, J. R. S.; CZANCK JR., L.; ANDRADE, I. S.; OLIVEIRA, A. D. Análise da distribuição espacial da candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) sujeita ao sistema de manejo porta-sementes. **Cerne**, v. 14, n. 4, p. 311–316, 2008.
- SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1790–1793, 2008.
- SILVA-JUNIOR, J. F. A cultura da mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 192, 2004.
- SKINNER, D. Z.; BAUCHAN, G. R.; AURICHT, G.; HUGHES, S. A Method for the Efficient Management and Utilization of Large Germplasm Collections. **Crop Science**, v. 39, n. 4, p. 1237, 1999.
- SLATKIN, M. Estimating levels of gene flow in natural populations. **Genetics**, v. 99, n. 2, p. 323–35, 1981.
- SLATKIN, M. Gene Flow in Natural Populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 16, n. 1, p. 393–430, 1985.
- SLATKIN, M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, v. 236, n. 4803, p. 787–792, 1987.
- SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 139, n. 1, p. 457–462, 1995.
- SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods of methods of estimating average levels of gene flow. **Evolution**, v. 43, n. 7, p. 1349–1368, 1989.
- SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. R. G.; PAIVA, P. D. O. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário**, Lavras, MG, v. 67, n. 1, 2006.
- SOARES, T. N.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; RESENDE, L. V. Spatial distribution of intrapopulation genetic variability in *Dipteryx alata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1151–1158, 2008.
- SOARES, T. N.; MELO, D. B.; RESENDE, L. V.; VIANELLO, R. P.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C. Development of microsatellite markers for the

neotropical tree species *Dipteryx alata* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, n. 2, p. 72-73, 2012.

SOARES, T. N.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P.C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; RESENDE, L. V. Landscape conservation genetics of *Dipteryx alata* (“baru” tree: *Fabaceae*) from Cerrado region of central Brazil. **Genetica**, v. 132, n. 1, p. 9–19, 2008.

SOKAL, R.R.; ODEN, N.L. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.10, p.199-228, 1978a .

SOKAL, R.R.; ODEN, N.L. Spatial autocorrelation in biology. 2. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.10, p.229-249, 1978b.

SOUSA, C. D. S.; SILVA, S. A.; COSTA, M. A. P. D. C.; LOYOLA, D. A. C. V.; FONSECA, A. A.; COSTA, C. A. L. D. C.; ALMEIDA, W. A. B. D.; PEIXOTO, C. P. Mangaba: Perspectivas e potencialidades. **Bahia agrícola**, Bahia, v. 7, n. 1, p. 29-31, 2005.

SORK, V. L. et al. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 14, n. 6, p. 219–224, 1999.

SUJII, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics**, v. 16, n. 4, p. 955–964, 2015.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution and Development**, v. 5, n. 1, p. 25–33, 2003.

SZPIECH, Z. A.; ROSENBERG, N. A. On the size distribution of private microsatellite alleles. **Theoretical Population Biology**, v. 80, n. 2, p. 100–113, 2011.

TELLES, M. P. C. et al. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 123–129, 2003.

TELLES, M. P. C. et al. Development and characterization of new microsatellites for *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3124–3127, 2013.

TELLES, M. P. D. C. et al. Estrutura genética em populações naturais de *Tibouchina papyrus* (pau-papel) em áreas de campo rupestre no cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 2, p. 291–300, 2010.

TEMPLETON, A. R. **Genética de Populações e Teoria Microevolutiva**. Riberão Preto-SP: Sociedade Brasileira de Genética, 2011, 705 p.

TRINDADE, M. DA G.; CHAVES, L. J. Genetic structure of natural *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) populations in northeastern Goiás, Brazil, accessed by morphological traits and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 3, p. 407–413, 2005.

TOGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas**: variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto: SBG, 1995, 186 p.

VALLOIS, A. C.; NASS, L. L.; GOES, M. Conservação ex situ de recursos genéticos vegetais. In: L. L. Nass et al. (Orgs.); **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. p.123–147, 2001. Rondonópolis: Fundação MT.

VEKEMANS, X.; HARDY, O. J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 4, p. 921–935, 2004.

VERON, V.; CARON, H.; DEGEN, B. Gene flow and mating system of the tropical tree *Sextonia rubra*. **Silvae Genetica**, v. 54, n. 6, p. 275–280, 2005.

VOLIS, S.; BLECHER, M. Quasi in situ: a bridge between ex situ and in situ conservation of plants. **Biodiversity and Conservation**, 2010.

WAGNER, H. H.; FORTIN, M.-J. A conceptual framework for the spatial analysis of landscape genetic data. **Conservation Genetics**, v. 14, p. 253–261, 2013.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005, 778 p.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis II**. Sinauer Associates, 1996.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358–1370, 1984.

WRIGHT, S. Genetical structure of populations. **Nature**, v. 166, n. 4215, p. 247–249, 1951.

YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluations of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Theaceae) in Korea based on allozyme studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 37, n. 1, p. 141–146, 1996.

ZHIHAO, S.; MINGLI, Z. A range wide geographic pattern of genetic diversity and population structure of *Hexinia polydichotoma* (Asteraceae) in Tarim Basin and adjacent areas. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p. 49–59, 2014.

ZUCCHI, M. I. et al. Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus*, spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family). **Molecular Ecology Notes**, v. 2, p. 512–513, 2002.

ZUCCHI, M. I. et al. Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 449–457, 2003.

ZUCCHI, M. I. et al. Genetic structure and gene flow of *Eugenia dysenterica* natural populations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 975–980, 2005.

Apêndice A. Frequência alélica dos sete locos microssatélites nas 18 primeiras populações de *H. speciosa*

	pop1	pop2	pop3	pop4	pop5	pop6	pop7	pop8	pop9	pop10	pop11	pop12	pop13	pop14	pop15	pop16	pop17	pop18
Loco: Hs01																		
p: 239	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.040	0.000	0.091	0.000	0.000	0.531
p: 241	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.423	0.412	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 243	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.094
p: 245	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 247	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.030	0.045	0.000	0.000	0.000
p: 249	0.000	0.016	0.000	0.172	0.047	0.000	0.107	0.031	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.078	0.016	0.000
p: 251	0.015	0.065	0.219	0.484	0.000	0.047	0.286	0.125	0.660	0.000	0.059	0.250	0.020	0.167	0.000	0.078	0.078	0.203
p: 253	0.167	0.081	0.031	0.016	0.031	0.047	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.120	0.000	0.000	0.156	0.125	0.000
p: 255	0.000	0.097	0.000	0.063	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 257	0.000	0.048	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.088	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.078
p: 259	0.000	0.000	0.000	0.063	0.031	0.016	0.000	0.000	0.000	0.154	0.206	0.000	0.040	0.015	0.000	0.000	0.000	0.063
p: 261	0.000	0.210	0.000	0.000	0.000	0.016	0.179	0.125	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.076	0.000	0.016	0.016	0.000
p: 263	0.015	0.000	0.203	0.031	0.000	0.016	0.107	0.094	0.000	0.077	0.029	0.000	0.160	0.015	0.227	0.047	0.047	0.000
p: 265	0.045	0.000	0.188	0.016	0.125	0.063	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.040	0.000	0.136	0.016	0.031	0.000
p: 267	0.136	0.032	0.031	0.031	0.016	0.156	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.140	0.212	0.136	0.047	0.078	0.000
p: 269	0.061	0.113	0.000	0.094	0.000	0.047	0.000	0.063	0.000	0.000	0.029	0.125	0.080	0.030	0.045	0.188	0.125	0.000
p: 271	0.258	0.000	0.000	0.000	0.063	0.313	0.107	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.136	0.091	0.219	0.063	0.000
p: 273	0.152	0.323	0.047	0.016	0.109	0.016	0.036	0.031	0.180	0.019	0.059	0.000	0.060	0.000	0.045	0.063	0.125	0.016
p: 275	0.015	0.016	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.094	0.040	0.154	0.029	0.125	0.020	0.015	0.000	0.016	0.000	0.000
p: 277	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.036	0.031	0.020	0.019	0.029	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 279	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.031	0.040	0.000	0.000	0.125	0.060	0.030	0.045	0.016	0.094	0.000
p: 281	0.000	0.000	0.031	0.000	0.016	0.094	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.045	0.000	0.016	0.000
p: 283	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.036	0.063	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.106	0.000	0.016	0.016	0.000
p: 285	0.061	0.000	0.109	0.000	0.000	0.031	0.036	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.061	0.000	0.031	0.063	0.000
p: 287	0.015	0.000	0.031	0.000	0.000	0.016	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.076	0.091	0.016	0.063	0.000
p: 289	0.030	0.000	0.047	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.015	0.000	0.000	0.031	0.016
p: 291	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000

Loco: Hs05

p: 149	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016
p: 151	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016
p: 157	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.042	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 159	0.000	0.000	0.015	0.000	0.234	0.061	0.000	0.000	0.000	0.439	0.444	0.000	0.000	0.015	0.045	0.000	0.000	0.172
p: 161	0.015	0.000	0.000	0.031	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 163	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047	0.015	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.094
p: 165	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.036	0.000	0.000	0.030	0.000	0.000	0.000	0.030	0.091	0.000	0.000	0.000
p: 167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.021	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047
p: 169	0.000	0.047	0.000	0.156	0.047	0.000	0.143	0.088	0.563	0.000	0.056	0.125	0.000	0.076	0.000	0.250	0.234	0.000
p: 171	0.212	0.094	0.242	0.469	0.000	0.076	0.036	0.088	0.083	0.000	0.000	0.125	0.056	0.091	0.023	0.000	0.000	0.344
p: 173	0.000	0.109	0.000	0.000	0.016	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 175	0.000	0.000	0.000	0.063	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.121	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 177	0.000	0.047	0.000	0.016	0.000	0.015	0.000	0.029	0.021	0.121	0.194	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.031	0.109
p: 179	0.000	0.094	0.000	0.000	0.031	0.000	0.036	0.029	0.000	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047	0.078
p: 181	0.015	0.125	0.106	0.063	0.000	0.015	0.143	0.147	0.021	0.045	0.028	0.000	0.074	0.076	0.227	0.078	0.094	0.016
p: 183	0.045	0.000	0.242	0.031	0.016	0.015	0.036	0.029	0.000	0.000	0.056	0.000	0.111	0.015	0.023	0.078	0.078	0.031
p: 185	0.121	0.031	0.061	0.000	0.125	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.037	0.030	0.023	0.000	0.016	0.000
p: 187	0.045	0.109	0.000	0.016	0.016	0.121	0.000	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.185	0.167	0.114	0.250	0.188	0.000
p: 189	0.242	0.000	0.000	0.047	0.000	0.091	0.179	0.059	0.000	0.000	0.000	0.125	0.019	0.045	0.023	0.078	0.063	0.016
p: 191	0.152	0.328	0.045	0.078	0.063	0.091	0.000	0.029	0.167	0.015	0.056	0.000	0.037	0.106	0.000	0.156	0.031	0.016
p: 193	0.015	0.000	0.000	0.000	0.094	0.258	0.000	0.000	0.021	0.121	0.000	0.000	0.093	0.000	0.227	0.000	0.016	0.000
p: 195	0.000	0.016	0.015	0.016	0.000	0.015	0.036	0.059	0.000	0.015	0.028	0.125	0.019	0.030	0.045	0.000	0.016	0.000
p: 197	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.029	0.042	0.000	0.000	0.250	0.056	0.015	0.000	0.016	0.063	0.016
p: 199	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.036	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.037	0.030	0.023	0.000	0.016	0.000
p: 201	0.000	0.000	0.030	0.000	0.000	0.091	0.071	0.059	0.021	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.136	0.000	0.000	0.031
p: 203	0.000	0.000	0.030	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.061	0.000	0.016	0.000	0.000
p: 205	0.000	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.143	0.235	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.091	0.000	0.000	0.047	0.000
p: 207	0.091	0.000	0.091	0.000	0.000	0.030	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.076	0.000	0.031	0.031	0.000

p: 145	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000
p: 147	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 149	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 151	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 159	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Loco: Hs08

p: 229	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.136	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 231	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000
p: 233	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 235	0.000	0.000	0.015	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 237	0.045	0.000	0.000	0.065	0.000	0.000	0.036	0.176	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.015	0.083	0.000	0.000	0.000
p: 239	0.061	0.016	0.061	0.242	0.000	0.000	0.179	0.176	0.080	0.000	0.000	0.375	0.222	0.091	0.000	0.078	0.078	0.000
p: 241	0.000	0.016	0.000	0.097	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.125	0.188	0.000
p: 243	0.000	0.000	0.045	0.403	0.219	0.061	0.000	0.059	0.000	0.172	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.016	0.031	0.156
p: 245	0.015	0.047	0.288	0.032	0.063	0.182	0.071	0.088	0.040	0.297	0.053	0.000	0.019	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 247	0.121	0.063	0.106	0.032	0.078	0.136	0.071	0.118	0.220	0.047	0.158	0.000	0.074	0.045	0.056	0.016	0.000	0.063
p: 249	0.227	0.016	0.030	0.048	0.422	0.106	0.071	0.029	0.220	0.047	0.211	0.250	0.167	0.485	0.139	0.297	0.125	0.000
p: 251	0.273	0.281	0.030	0.000	0.031	0.076	0.036	0.029	0.200	0.188	0.211	0.000	0.093	0.091	0.139	0.125	0.125	0.141
p: 253	0.182	0.297	0.015	0.016	0.031	0.030	0.214	0.059	0.140	0.094	0.000	0.000	0.111	0.030	0.139	0.109	0.141	0.031
p: 255	0.045	0.078	0.167	0.000	0.063	0.136	0.107	0.029	0.080	0.078	0.053	0.000	0.093	0.045	0.083	0.203	0.141	0.000
p: 257	0.030	0.031	0.091	0.048	0.000	0.030	0.071	0.059	0.000	0.063	0.211	0.125	0.074	0.061	0.250	0.031	0.063	0.609
p: 259	0.000	0.156	0.076	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000	0.026	0.000	0.037	0.045	0.000	0.000	0.031	0.000
p: 261	0.000	0.000	0.076	0.000	0.000	0.015	0.107	0.088	0.000	0.000	0.000	0.125	0.093	0.000	0.028	0.000	0.031	0.000
p: 263	0.000	0.000	0.000	0.000	0.094	0.000	0.036	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 265	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 267	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 269	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 271	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000
p: 273	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000

p: 141	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.016
p: 143	0.030	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
p: 145	0.000	0.000	0.000	0.016	0.031	0.000	0.036	0.028	0.000	0.000	0.026	0.000	0.036	0.000	0.023	0.000	0.016	0.000
p: 147	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.031	0.000
p: 149	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 151	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 153	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 155	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 157	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 161	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 165	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Loco: Hs30

p: 193	0.000	0.000	0.000	0.000	0.547	0.000	0.036	0.000	0.000	0.288	0.000	0.125	0.019	0.016	0.071	0.125	0.047	0.000
p: 195	0.848	0.547	0.576	0.891	0.453	0.333	0.464	0.361	0.760	0.697	0.842	0.625	0.673	0.938	0.857	0.813	0.672	0.984
p: 197	0.121	0.000	0.409	0.078	0.000	0.348	0.500	0.639	0.000	0.015	0.079	0.250	0.288	0.047	0.036	0.063	0.250	0.016
p: 199	0.030	0.453	0.000	0.031	0.000	0.288	0.000	0.000	0.240	0.000	0.079	0.000	0.019	0.000	0.036	0.000	0.031	0.000
p: 201	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.030	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
p: 203	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Apêndice B. Frequência alélica dos sete locos microsatélites nas 10 últimas populações de *H. speciosa*

	pop19	pop20	op21	pop22	pop23	pop24	pop25	pop26	pop27	pop28
Loco: Hs01										
p: 239	0,597	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 241	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,056	0,071	0,000	0,000

Loco: Hs06

p: 95	0,000	0,016	0,000	0,016	0,063	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 99	0,000	0,177	0,000	0,016	0,031	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 101	0,016	0,048	0,000	0,031	0,016	0,210	0,000	0,000	0,000	0,017
p: 103	0,000	0,081	0,109	0,156	0,078	0,016	0,056	0,036	0,136	0,133
p: 105	0,016	0,000	0,000	0,016	0,094	0,048	0,000	0,000	0,000	0,033
p: 107	0,000	0,048	0,141	0,063	0,047	0,000	0,000	0,036	0,045	0,083
p: 109	0,016	0,129	0,094	0,141	0,078	0,032	0,000	0,107	0,227	0,333
p: 111	0,000	0,000	0,016	0,000	0,125	0,065	0,000	0,036	0,106	0,133
p: 113	0,031	0,016	0,063	0,047	0,047	0,081	0,028	0,071	0,121	0,033
p: 115	0,219	0,000	0,078	0,031	0,016	0,048	0,028	0,036	0,000	0,050
p: 117	0,000	0,016	0,109	0,109	0,203	0,016	0,000	0,000	0,030	0,017
p: 119	0,000	0,016	0,047	0,031	0,078	0,032	0,000	0,036	0,061	0,000
p: 121	0,078	0,016	0,016	0,109	0,031	0,048	0,167	0,143	0,076	0,000
p: 123	0,172	0,016	0,000	0,000	0,016	0,016	0,111	0,071	0,045	0,083
p: 125	0,109	0,032	0,031	0,031	0,000	0,032	0,056	0,036	0,076	0,033
p: 127	0,094	0,065	0,016	0,016	0,016	0,065	0,056	0,036	0,030	0,000
p: 129	0,031	0,194	0,016	0,063	0,000	0,032	0,111	0,036	0,000	0,050
p: 131	0,016	0,129	0,016	0,016	0,016	0,000	0,083	0,036	0,000	0,000
p: 133	0,000	0,000	0,109	0,000	0,000	0,016	0,028	0,071	0,015	0,000
p: 135	0,016	0,000	0,016	0,000	0,000	0,016	0,028	0,071	0,030	0,000
p: 137	0,000	0,000	0,016	0,031	0,000	0,048	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 139	0,078	0,000	0,031	0,047	0,000	0,016	0,000	0,107	0,000	0,000
p: 141	0,047	0,000	0,000	0,016	0,000	0,016	0,083	0,000	0,000	0,000
p: 143	0,016	0,000	0,016	0,016	0,016	0,032	0,056	0,036	0,000	0,000
p: 145	0,000	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 147	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 149	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 151	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 155	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 159	0,016	0,000	0,000	0,000	0,031	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000

Loco: Hs08

p: 229	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 231	0,016	0,375	0,000	0,000	0,194	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 233	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 235	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 237	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,032	0,000
p: 239	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,056	0,143	0,016	0,097
p: 241	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,081	0,048
p: 243	0,375	0,000	0,031	0,173	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016	0,000
p: 245	0,063	0,031	0,031	0,000	0,032	0,053	0,194	0,071	0,048	0,016
p: 247	0,047	0,391	0,047	0,096	0,194	0,158	0,083	0,143	0,113	0,048
p: 249	0,219	0,094	0,047	0,115	0,000	0,105	0,056	0,036	0,194	0,081
p: 251	0,016	0,078	0,188	0,038	0,177	0,158	0,083	0,071	0,194	0,371
p: 253	0,047	0,000	0,094	0,019	0,210	0,105	0,056	0,000	0,161	0,258
p: 255	0,031	0,000	0,156	0,077	0,016	0,105	0,278	0,357	0,065	0,081
p: 257	0,156	0,000	0,094	0,096	0,113	0,132	0,056	0,107	0,048	0,000
p: 259	0,016	0,000	0,016	0,077	0,016	0,000	0,056	0,036	0,032	0,000
p: 261	0,016	0,000	0,234	0,096	0,032	0,053	0,028	0,036	0,000	0,000
p: 263	0,000	0,000	0,063	0,058	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 265	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 267	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 269	0,000	0,000	0,000	0,058	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 271	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 273	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Loco: Hs11

p: 123	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 127	0,000	0,000	0,031	0,016	0,063	0,000	0,000	0,000	0,093	0,037
p: 129	0,813	0,938	0,922	0,625	0,938	0,938	0,667	0,607	0,370	0,796
p: 131	0,188	0,031	0,047	0,359	0,000	0,047	0,333	0,393	0,537	0,167

p: 153	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 155	0,000	0,000	0,032	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 157	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,047	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 161	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
p: 165	0,016	0,000	0,000	0,000	0,031	0,047	0,000	0,000	0,000	0,000

Loco: Hs30

p: 193	0,000	0,000	0,109	0,078	0,000	0,125	0,556	0,286	0,015	0,000
p: 195	0,969	0,000	0,891	0,750	0,016	0,813	0,444	0,679	0,394	0,641
p: 197	0,031	0,000	0,000	0,016	0,156	0,031	0,000	0,036	0,561	0,234
p: 199	0,000	0,774	0,000	0,094	0,734	0,031	0,000	0,000	0,030	0,125
p: 201	0,000	0,226	0,000	0,063	0,047	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
p: 203	0,000	0,000	0,000	0,000	0,047	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Apêndice C. Teste de desequilíbrio de ligação para todas as possibilidades de pares de locos. Probabilidades calculadas a partir de teste baseado em reamostragem, segundo teste de permutação

	Hs01/ Hs05	Hs01/ Hs06	Hs01/ Hs08	Hs01/ Hs11	Hs01/ Hs16	Hs01/ Hs30	Hs05/ Hs06	Hs05/ Hs08	Hs05/ Hs11	Hs05/ Hs16	Hs05/ Hs30	Hs06/ Hs08	Hs06/ Hs11	Hs06/ Hs16	Hs06/ Hs30	Hs08/ Hs11	Hs08/ Hs16	Hs08/ Hs30	Hs11/ Hs16	Hs11/ Hs30	Hs16/ Hs30
HASgPIRGO	0,000	0,002	0,500	0,903	0,000	0,772	0,024	1,000	0,907	0,013	0,821	0,358	0,441	0,000	0,348	0,972	0,251	0,671	0,654	0,204	0,392
HASgPORGO	0,000	0,622	0,084	0,240	0,881	0,071	0,661	0,039	0,207	0,726	0,237	0,179	0,087	0,000	0,108	0,550	0,145	0,145	0,209	0,614	0,165
HASgMATGO	0,000	1,000	0,146	0,354	1,000	0,579	0,523	0,667	0,381	0,591	0,385	1,000	0,343	0,000	0,412	0,684	1,000	0,756	0,392	0,149	0,005
HAScCHGMT	0,000	0,396	0,982	0,914	0,555	0,384	1,000	0,968	0,905	1,000	0,404	1,000	0,876	0,001	0,802	0,056	1,000	0,062	0,757	0,466	0,462
HAScCAGMs	0,000	0,279	0,035	0,759	0,355	0,344	0,384	0,033	0,627	0,446	0,631	0,270	0,755	0,000	0,183	0,526	0,099	0,354	0,815	0,757	0,341
HASsPIPMG	0,000	1,000	1,000	0,576	1,000	0,155	1,000	1,000	0,304	1,000	0,248	0,313	0,505	0,000	0,469	0,936	0,396	0,322	0,171	0,038	0,089
HASpFANGO	1,000	1,000	1,000	0,466	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,453	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,190	1,000	0,856
HASgFANGO	0,040	1,000	1,000	0,679	1,000	0,102	1,000	1,000	1,000	1,000	0,866	1,000	0,453	0,086	0,348	1,000	1,000	0,564	0,002	0,014	0,126
HASgGCAMT	0,000	0,943	0,239	0,868	0,770	0,048	1,000	0,721	0,927	0,257	0,048	1,000	0,108	1,000	0,632	0,724	1,000	0,466	0,709	0,287	0,088
HASgSELMs	0,000	1,000	1,000	0,785	0,635	0,709	0,431	0,567	0,904	0,449	0,952	0,061	0,616	0,028	0,988	0,412	1,000	0,746	0,907	0,088	0,956
HASgMCAMG	1,000	0,081	1,000	0,289	0,077	0,469	1,000	1,000	0,025	1,000	0,629	1,000	1,000	1,000	0,550	0,613	1,000	0,534	0,383	0,924	1,000
HASgMUTGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
HASpMUTGO	0,057	0,099	1,000	1,000	1,000	0,779	0,008	0,176	0,562	1,000	0,252	0,006	0,147	1,000	0,288	0,265	1,000	0,508	0,894	0,892	0,633
HASpNIQGO	0,000	0,016	1,000	0,678	1,000	0,640	0,122	1,000	0,586	1,000	0,560	0,624	0,556	0,388	0,988	0,599	0,125	0,379	0,952	0,363	0,900
HASpAPAGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,545	1,000	0,631	1,000	0,945	1,000	0,504	0,637	1,000	0,922	0,981	1,000	1,000
HASgJARGO	0,059	1,000	1,000	0,018	1,000	0,982	0,408	1,000	0,596	1,000	0,504	0,067	0,957	0,002	0,595	0,242	0,393	0,850	0,288	0,939	0,230
HASpJARGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,239	0,161	0,198	0,563	0,180	0,637	0,000	0,632	0,518	0,185	0,746	0,393	0,270	0,878
HASgFROMG	0,000	0,177	0,406	0,425	0,416	0,126	0,919	0,241	0,734	0,962	0,370	0,727	0,049	0,000	0,683	0,386	0,816	0,663	0,060	1,000	0,501
HASgPEDMG	0,004	0,002	0,246	0,866	0,019	0,691	0,843	0,793	0,595	0,835	0,465	0,494	0,419	0,000	0,645	0,063	0,483	0,938	0,645	1,000	0,645
HASsJAPMG	0,000	0,699	0,062	0,538	0,345	0,135	0,345	0,001	0,510	0,582	0,420	0,410	0,325	0,000	0,177	0,070	0,143	0,520	0,139	0,179	0,403
HASgNATTO	0,000	1,000	1,000	0,115	0,343	0,288	0,410	0,497	0,294	0,073	0,522	0,240	0,301	0,000	0,727	0,151	0,020	0,455	0,525	0,154	0,852
HASgPONTO	0,000	0,333	0,128	0,445	0,211	0,855	0,236	1,000	0,213	0,125	0,843	1,000	0,409	0,000	0,601	0,622	1,000	1,000	0,777	0,732	0,703
HASsROVBA	0,000	0,432	0,468	0,576	0,772	0,767	0,411	0,127	0,743	0,747	0,642	0,430	0,545	0,000	0,066	0,395	0,808	0,993	0,279	0,862	0,048
HASgBRAMG	0,000	1,000	1,000	0,498	1,000	0,777	1,000	1,000	0,544	1,000	0,889	1,000	0,917	0,000	0,184	0,310	1,000	0,308	0,964	0,707	0,226
HASpCOCMT	0,115	1,000	1,000	0,236	1,000	1,000	0,044	1,000	0,460	0,050	0,707	1,000	1,000	0,005	1,000	1,000	1,000	0,768	1,000	1,000	1,000

HASgCOCMT	0,014	1,000	0,102	1,000	1,000	0,558	1,000	0,060	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,751	1,000	1,000	1,000	0,229	1,000
HAScDIAMS	0,004	1,000	0,359	0,453	0,351	0,955	1,000	1,000	0,939	0,348	0,222	1,000	0,315	0,229	0,944	0,775	0,236	0,174	0,345	0,193	0,959
HAScSTAMS	0,002	0,308	0,310	0,055	0,372	0,983	0,819	0,465	0,679	0,318	0,380	0,530	0,497	0,000	0,993	0,483	0,785	0,862	0,302	0,430	0,933

Em destaque: Probabilidade < 0,05 (em desequilíbrio de ligação). Valores baseados em 10080 permutações.

Apêndice D. F_{ST} par a par obtido pelo software Arlequin

	cCHGMT	cCAGMs	cSTAMS	cDIAMS	gPORGO	gMATGO	gSELMs	gFANGO	gMCAMG	gMUTGO	gGCAMT	gJARGO	gFROMG	gPEDMG	gNATTO	gPONTO
cCHGMT	0															
cCAGMs	0,16753	0														
cSTAMS	0,08454	0,17658	0													
cDIAMS	0,09987	0,16939	0,05963	0												
gPORGO	0,19127	0,23007	0,13529	0,15094	0											
gMATGO	0,08401	0,15086	0,07945	0,03881	0,13370	0										
gSELMs	0,13193	0,09449	0,12744	0,16087	0,19062	0,1179	0									
gFANGO	0,13278	0,16777	0,11977	0,05764	0,17984	0,05276	0,15443	0								
gMCAMG	0,11069	0,13328	0,10969	0,11061	0,17834	0,09093	0,06159	0,12523	0							
gMUTGO	0,09277	0,12842	0,11407	0,08253	0,20080	0,06807	0,13728	0,01589	0,09522	0						
gGCAMT	0,09551	0,18468	0,08120	0,11778	0,13678	0,11133	0,15638	0,14816	0,11981	0,10478	0					
gJARGO	0,09057	0,11442	0,10845	0,10407	0,17124	0,09319	0,10056	0,11611	0,06846	0,07729	0,09724	0				
gFROMG	0,15765	0,18259	0,17281	0,20776	0,27473	0,17908	0,17566	0,22521	0,12540	0,18223	0,21315	0,14922	0			
gPEDMG	0,09177	0,13231	0,14529	0,17150	0,24579	0,14188	0,14220	0,19334	0,12264	0,15178	0,17893	0,11517	0,07137	0		
gNATTO	0,13002	0,13330	0,11162	0,14495	0,16114	0,10939	0,09424	0,14396	0,10656	0,12228	0,13568	0,07375	0,16859	0,14546	0	

gPONTO	0,10371	0,12068	0,10353	0,09462	0,14430	0,08387	0,10377	0,10605	0,07617	0,08348	0,12456	0,05350	0,16950	0,13380	0,04713	0
gBRAMG	0,09375	0,10137	0,08192	0,11939	0,16211	0,08956	0,06609	0,11716	0,07512	0,08265	0,10740	0,03349	0,12898	0,10333	0,02396	0,04199
gCOCMT	0,11253	0,12516	0,12280	0,08697	0,16485	0,05507	0,09400	0,09578	0,07726	0,08424	0,13920	0,06102	0,17422	0,14668	0,08442	0,07139
gPIRGO	0,11452	0,13010	0,08566	0,12170	0,17062	0,10781	0,10215	0,12559	0,08583	0,0930	0,12315	0,04199	0,13573	0,11655	0,06255	0,07141
sPIPMG	0,14475	0,11010	0,10008	0,10125	0,16414	0,08493	0,09822	0,08434	0,11187	0,09759	0,14248	0,08944	0,19329	0,15705	0,08674	0,07294
sJAPMG	0,29013	0,23408	0,25014	0,25109	0,25685	0,22244	0,24642	0,24872	0,25170	0,27064	0,26536	0,23254	0,33641	0,31280	0,25005	0,22763
sROVBA	0,22948	0,18790	0,18435	0,17966	0,19570	0,17944	0,18773	0,16945	0,19031	0,18855	0,20593	0,17515	0,27509	0,25915	0,18183	0,16646
pFANGO	0,09981	0,13553	0,08050	0,04609	0,16746	0,04902	0,11982	-0,00002	0,10208	0,00460	0,10126	0,08429	0,20043	0,17060	0,10441	0,08449
pMUTGO	0,09552	0,10783	0,08016	0,07127	0,13602	0,04279	0,08725	0,04083	0,07508	0,02499	0,10998	0,05324	0,16619	0,13324	0,07301	0,05834
pNIQGO	0,09230	0,12213	0,09475	0,11927	0,16369	0,09881	0,09653	0,11741	0,08038	0,07346	0,08314	0,04532	0,16573	0,11502	0,06843	0,07156
pAPAGO	0,08753	0,06203	0,07910	0,10184	0,14009	0,05794	0,04930	0,09382	0,04626	0,08855	0,10393	0,01402	0,10544	0,09073	0,01574	0,04155
pJARGO	0,07442	0,11053	0,09314	0,07462	0,15163	0,06143	0,08457	0,07356	0,05979	0,05024	0,08835	0,00951	0,14418	0,10576	0,07378	0,06065
pCOCMT	0,14239	0,11309	0,13969	0,10490	0,17772	0,08174	0,10137	0,11232	0,10996	0,10290	0,16144	0,07832	0,19546	0,16651	0,10807	0,08956

Continuação da tabela anterior...

	gBRAMG	gCOCMT	gPIRGO	sPIPMG	sJAPMG	sROVBA	pFANGO	pMUTGO	pNIQGO	pAPAGO	pJARGO	pCOCMT
gBRAMG	0											
gCOCMT	0,07018	0										
gPIRGO	0,02010	0,10334	0									
sPIPMG	0,05021	0,10605	0,07908	0								
sJAPMG	0,20956	0,24364	0,21836	0,14659	0							
sROVBA	0,14096	0,19290	0,16322	0,08320	0,10583	0						
pFANGO	0,07947	0,07091	0,09366	0,06318	0,23871	0,14931	0					
pMUTGO	0,03739	0,05845	0,06073	0,05245	0,20517	0,13082	0,02249	0				
pNIQGO	0,03009	0,09205	0,04971	0,09360	0,24285	0,18115	0,08292	0,04323	0			
pAPAGO	-0,00088	0,02579	0,01393	0,00447	0,17327	0,09574	0,03617	0,01610	0,02603	0		
pJARGO	0,03473	0,05309	0,04692	0,06488	0,20776	0,13956	0,04694	0,03057	0,05179	-0,00544	0	
pCOCMT	0,08256	-0,00073	0,12030	0,11040	0,23501	0,18550	0,09442	0,08959	0,12039	0,04696	0,0752	0

