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

VARIABILIDADE GENÉTICA E CONSERVAÇÃO DE *Stryphnodendron adstringens* (LEGUMINOSAE)

ARIANY ROSA GONÇALVES

Orientadora:

Prof.ª Dr.ª Mariana Pires de Campos Telles

Goiânia - GO
Brasil

Março - 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES 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 9.610/98, 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.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

[ ] Dissertação [**x**] Tese

2. Nome completo do autor

ARIANY ROSA GONÇALVES

3. Título do trabalho

Variabilidade genética e conservação de Stryphnodendron adstringens (Leguminosae)

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [**x**] SIM [ ] NÃO[1]

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:
a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.
Casos de embargo:
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **ARIANY ROSA GONÇALVES**, **Discente**, em 21/07/2020, às 09:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Mariana Pires De Campos Telles**, **Professor do Magistério Superior**, em 23/07/2020, às 10:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1447877** e o código CRC **80F6AC87**.

ARIANY ROSA GONÇALVES

Variabilidade genética e conservação de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae)

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:

Prof.ª Dr.ª Mariana Pires de Campos Telles

Goiânia, GO - Brasil
2020

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

Rosa Gonçalves, Ariany
Variabilidade genética e conservação de Stryphnodendron adstringens (Leguminosae) [manuscrito] / Ariany Rosa Gonçalves. - 2020.
cxxix, 129 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Mariana Pires de Campos Telles.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2020.
Bibliografia. Anexos. Apêndice.
Inclui mapas, fotografias, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Barbatimão. 2. Genética da paisagem. 3. Isolamento por distância. 4. Mudanças climáticas. 5. Sistema reprodutivo. I. Pires de Campos Telles, Mariana , orient. II. Título.

CDU 575

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº **0054/2020** da sessão de Defesa de Tese de **ARIANY ROSA GONÇALVES** que confere o título de Doutora em **Genética e Melhoramento de Plantas**, na área de concentração em **Genética e Melhoramento de Plantas.**

Aos **Vinte e três dias do mês de março do ano de dois mil e vinte** (23/03/2020), a partir das 13h30min, por videoconferência, seguindo portaria CAPES nº. 36 de 16 de março de 2020 e recomendação da UFG, realizou-se a Defesa de Tese intitulada **"Influência do espaço geográfico e de fatores ambientais na variabilidade genética de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae): implicações para uso e conservação"**. Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Professora **Dr.ª Mariana Pires de Campos Telles – (ICB/UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor **Dr. Lázaro José Chaves – (EA/UFG)**, membro titular interno; Professora **Dr.ª Thannya Nascimento Soares – (ICB/UFG)**, membro titular interno; Professor **Dr. Rafael Barbosa Pinto – (ICB/UFG)**, membro titular externo; Professora **Dr.ª Edivani Villaron Franceschinelli – (ICB/UFG)**, membro titular externo. Durante a arguição, os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora **Dr.ª Mariana Pires de Campos Telles – (ICB/UFG)**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **Vinte e três dias do mês de março do ano de dois mil e vinte**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Variabilidade genética e conservação de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae)

Documento assinado eletronicamente por **Mariana Pires De Campos Telles**, **Professora do Magistério Superior**, em 24/03/2020, às 17:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Thannya Nascimento Soares**, **Coordenadora de Curso**, em 24/03/2020, às 18:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Lazaro Jose Chaves**, **Professor do Magistério Superior**, em 25/03/2020, às 09:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Rafael Barbosa Pinto**, **Usuário Externo**, em 26/03/2020, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Edivani Villaron Franceschinelli**, **Professora do Magistério Superior**, em 29/03/2020, às 12:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **ARIANY ROSA GONÇALVES**, **Discente**, em 31/03/2020, às 11:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1206735** e o código CRC **7AC0A129**.

“Sólo se preserva aquello que se ama, sólo se ama aquello que se conoce”.

“Só se preserva aquilo que se ama, só se ama aquilo que se conhece”.

Aloísio Magalhães

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos órgãos de fomento que viabilizaram o desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. José Alexandre Felizola Diniz Filho, pela coordenação dos projetos financiados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo nº 402178/2016-5) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG; Chamada Universal nº 07/2014, Processo nº 201410267001736). Esse trabalho foi desenvolvido no contexto do INCT em Ecologia, Evolução e Conservação da Biodiversidade (EECBio), inserido no grupo de trabalho de Genética e Genômica Evolutiva, ao qual também agradeço. O apoio financeiro para as expedições de coleta e etapas laboratoriais também foi disponibilizado pelo INCT (INCT – EECBio/CNPq - Processo: nº465610/20145 e FAPEG - Processo nº 201810267000023). Quero ainda agradecer à CAPES pela concessão da bolsa durante 42 meses do meu doutorado, pois sem ela nada disso seria possível. Em tempos de muita dificuldade, ter tido a oportunidade de ser bolsista foi fundamental para que eu realizasse meu desejo de concluir a pós-graduação. Neste sentido, agradeço também a oportunidade de ser bolsista DTI, vinculada ao INCT – EECBio, que foi fundamental para a finalização do doutorado e redação da tese, além contribuir para a minha formação enquanto pesquisadora.

Aproveito também para agradecer ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas, onde realizei o mestrado e finalizo mais essa etapa acadêmica. Agradeço aos professores que muito contribuíram para minha formação. Neste sentido, aproveito para agradecer aos demais programas de pós-graduação da UFG que me acolheram em diversas disciplinas durante o doutorado, principalmente EcoEvol e PGBM.

Agradeço imensamente à minha orientadora Profª. Drª. Mariana Pires de Campos Telles, não só pelas orientações, mas pela parceria firmada desde meu mestrado. Palavras nunca vão ser capazes de expressar o quanto sou grata por ter encontrado você em minha trajetória acadêmica. Obrigada, principalmente, por entender o meu jeito de trabalhar e confiar nas minhas ações, até quando eu mesma não podia acreditar no potencial. Com certeza, sem você, minha trajetória não teria sido a mesma, por isso, o meu muito obrigada!

Não posso deixar de agradecer à minha banca de qualificação, aos professores Lázaro José Chaves e Thannya Nascimento Soares. Obrigada pelos ensinamentos! Foi uma etapa tensa, mas, ao mesmo tempo, foi a melhor parte do doutorado. Sem os puxões de orelha, com certeza, eu não seria quem sou hoje. Obrigada, especialmente, por entenderem

meu nervosismo e contribuírem tanto para a elaboração desta tese. Também agradeço imensamente à minha banca de defesa, que tanto contribuiu para a melhora do documento para a versão final. Muito obrigada à Profª. Edivani Franceschinelli, por me ajudar a entender a biologia reprodutiva do barbatimão e ter me ensinado tanto. Obrigada a Profª. Thannya Soares pelo "pente fino" na metodologia e pelas palavras esclarecedoras. Ao Prof. Lázaro Chaves, por contribuir tanto para que eu entendesse melhor meus resultados e melhorasse a discussão do trabalho. E, finalmente, ao Dr. Rafael Pinto, que me fez enxergar várias hipóteses interessantes, não só para esta tese, quanto para estudos futuros.

Sou muito grata à equipe de coleta, especialmente aos Professores Mariana Telles, Thannya Soares e Lázaro Chaves que coordenaram e executaram as expedições para levar o material para o Laboratório de Genética & Biodiversidade (LGBio)! Sem vocês, não teríamos material para podermos realizar nossos projetos. Neste sentido, agradeço imensamente à minha segunda casa, minha família LGBio! Durante esses seis anos me senti acolhida e amada, fiz amizades para a vida, além de sorrir e chorar! Agradeço ao "*time barbatimão*", nome carinhoso que dei para meus colegas e amigos que estudaram comigo e me ajudaram tanto! Essa família só cresce, e eu só tenho orgulho de fazer parte de tudo isso! Cada pessoa que passou ou ainda está no LGBio tem um lugar em meu coração!

Sou grata àqueles que me ajudaram tanto a me manter nos eixos durante esses anos, em especial, Ramilla, Vanessa, Ueric, Rhewter, Fernanda e Thais que estão comigo desde 2014. Obrigada por tudo! Obrigada por estarem comigo em momentos tão difíceis da minha vida, nem que seja me tirando do laboratório para tomar um café e desabafar. Isso foi muito importante para mim! Nunca vou conseguir expressar o quanto sou grata pela nossa amizade! Agradeço também aos que se achegaram depois, em especial à Andrezza, que sempre estava pronta para me ajudar ou me ouvir! Agradeço também à Sara e Larissa que tanto nos ajudaram nas extrações de DNA de barbatimão. À Eliane, que chegou há tão pouco tempo e parece que nos conhecemos há anos! Você é meu presente de 2019, nunca vou me cansar de dizer isso. Obrigada por me apoiar tanto e me ajudar a encontrar meu equilíbrio mental e emocional. E falando em saúde mental, preciso agradecer a meu "migo" Victor Felipe, você sempre é capaz de tirar um sorriso do meu rosto. Obrigada por me ajudar tanto a esquecer meus problemas e levar a vida de maneira mais leve! Mesmo os que não mencionei aqui, saibam que todos, de alguma forma, fazem parte da minha vida e contribuíram de alguma maneira para que essa etapa se concretizasse. Espero ser para vocês um pouquinho do que vocês foram e são para mim!

Finalmente, não poderia deixar de agradecer à minha família, que tanto me faz falta. Aos meus pais, Mary e Jurandir, que mesmo não estando perto, sempre torcem por mim e entendem que nem sempre posso estar presente. À minha avó Maria que compreende que a minha ausência é por um bem maior. Quero aproveitar para dedicar esta tese à minha tia Telma, que se foi em 2017. Ela, com certeza, estaria vibrando de orgulho por me ver concluir mais esta etapa da minha vida. Agradeço ao meu irmão Brunno e minhas primas-irmãs (Claudianne e Leydianne) por fazerem companhia para minha mãe e nossa avó, enquanto eu não pude. Por fim, agradeço ao meu esposo Max Willian que, mesmo em meus momentos mais loucos, esteve presente e tentou me entender. Sei que não sou a pessoa mais fácil de decifrar. Obrigada por ser meu companheiro, meu amor e meu amigo da graduação para a vida, eu amo você até o restinho de nossas vidas!!!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
2 REFERENCIAL TEÓRICO 21
2.1 CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS FITOGENÉTICOS DO CERRADO 21
2.2 A ESPÉCIE *STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS* 24
2.2.1 Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica 24
2.2.2 Descrição botânica e fenológica 27
2.2.3 Propriedades bioquímicas e potencial de uso 30
2.2.4 Estudos genéticos 32
2.3 ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL NO CONTEXTO ESPACIAL 34
2.3.1 Abordagens espacialmente implícitas 36
2.3.2 Abordagens espacialmente explícitas 37
3 MATERIAL E MÉTODOS 39
3.1 AMOSTRAGEM E GENOTIPAGEM DE MICROSSATÉLITES 39
3.2 VARIABILIDADE GENÉTICA 44
3.3 ESTRUTURA E DISTÂNCIA GENÉTICA POPULACIONAL 45
3.4 HISTÓRIA DEMOGRÁFICA E PROCESSOS MICROEVOLUTIVOS 48
3.5 GRUPOS GENÉTICOS POR INFERÊNCIA BAYESIANA 50
3.5.1 Grupos genéticos ancestrais 50
3.5.2 Estrutura espacial e fatores climáticos 51
3.6 CONSERVAÇÃO DE ÁREAS PRIORITÁRIAS 53
4 RESULTADOS 54
4.1 VARIABILIDADE GENÉTICA 54
4.2 ESTRUTURA E DISTÂNCIA GENÉTICA POPULACIONAL 60
4.3 HISTÓRIA DEMOGRÁFICA E PROCESSOS MICROEVOLUTIVOS 69
4.4 GRUPOS GENÉTICOS POR INFERÊNCIA BAYESIANA 71
4.4.1 Grupos genéticos ancestrais 71
4.4.2 Estrutura espacial e fatores climáticos 75
4.5 CONSERVAÇÃO DE ÁREAS PRIORITÁRIAS 78
5 DISCUSSÃO 80
5.1 DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E SISTEMA REPRODUTIVO 80
5.2 ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL E FLUXO GÊNICO 84
5.3 CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE 87
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 92
APÊNDICES 111
ANEXO 128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspectos biológicos da espécie *Stryphnodendron adstringens*. **A**) Porte arbóreo. Foto tirada na coleção de germoplasma na RPPN EcoCerrado – Araxá, Minas Gerais (Mariana Telles); **B**) Inflorescência em formato de espiga e folhas compostas bipinadas (Foto: Rubens Queiroz); **C**) Frutos em formato de vagem; **D**) Fruto deiscente, com sementes oblongoides (Fotos: Mariana Telles). 28

Figura 2. Mapa representativo das 19 localidades onde foram coletadas amostradas de tecido foliar de *Stryphnodendron adstringens*. Em destaque está o Cerrado brasileiro. Os detalhes de coordenadas geográficas e significados das siglas de cada subpopulação estão disponíveis na Tabela 3. 40

Figura 3. Número de grupos de genótipos idênticos, com os respectivos números de indivíduos compartilhando o mesmo genótipo. A ocorrência de clones foi verificada em dez subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. 56

Figura 4. Relação do número de alelos amostrados para cada loco microssatélite utilizado no estudo da diversidade genética de *Stryphnodendron adstringens*..... 57

Figura 5. Frequência de alelos privados e sua ocorrência em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*..... 60

Figura 6. Agrupamento entre subpopulações de *Stryphnodendron adstringens* obtido pelo método UPGMA, a partir da matriz de F_{ST} par a par. A consistência dos nós do dendrograma foi obtida por meio de 10.000 reamostragens bootstrap em multiescala. Os valores em azul estão expressos em porcentagem. 63

Figura 7. Rede de conexão obtida por meio da matriz de F_{ST} entre os pares de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Os círculos correspondem às subpopulações e o tamanho deles é proporcional aos valores de centralidade de intermediação. Os ramos apresentam as vias de fluxo gênico, em que a espessura corresponde ao grau de conexão entre as subpopulações (*threshold* = 0,15). 64

Figura 8. Mapa de componentes de relevo e hidrografia no Cerrado brasileiro, indicando a barreira genética (linha vinho). Esta barreira está situada na região do Rio Araguaia, e ocorre em regiões com diferentes planaltos e patamares, isolando a subpopulação CHGMT das demais. 65

Figura 9. Gráfico de dispersão correspondente à correlação matricial entre as distâncias genéticas (eixo *y*) e as distâncias geográficas representadas em quilômetros (eixo *x*). A correlação de Mantel foi alta e significativa (r_m = 0,5695; p < 0,005). Valores obtidos por meio de 10.000 permutações. 66

Figura 10. Correlograma de Mantel obtido a partir de seis classes de distâncias geográficas correlacionadas com as distâncias genéticas de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. O componente geográfico apresenta influência significativa na primeira e na última classe de distância, atuando efetivamente na distribuição da variabilidade genética e gerando um padrão espacial evidente. O eixo *y* corresponde à correlação de Mantel (r_m) e o eixo *x* representa as classes de distâncias geográficas, expressas em quilômetros (km). 67

Figura 11. Análise Espacial de Componentes Principais (sPCA) de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, amostradas no Cerrado brasileiro. **A)** Representação dos valores dos scores ao longo do espaço geográfico. Os círculos marrons indicam valores positivos e, os círculos verdes, valores negativos. **B)** Interpolação usando uma regressão global ponderada dos scores genotípicos individuais. Os contornos são pontuações de componentes que representam similaridade na paisagem, com a seta indicando o gradiente encontrado na área amostrada. . 68

Figura 12. Teste de atribuição individual realizado por meio de análise bayesiana no STRUCTURE. Foi sugerido um valor de $k = 2$ grupos genéticos (Evanno et al., 2005). **A)** Padrão de distribuição dos grupos genéticos e porcentagem compartilhada entre os indivíduos de cada subpopulação de *Stryphnodendron adstringens*. **B)** Cada barra vertical corresponde a um indivíduo e as cores indicam a proporção em que o genótipo individual está alocado a determinado cluster. Nenhuma subpopulação apresentou correspondência exclusiva, confirmando mistura. Número de clusters detectados a partir de dados genotípicos de 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, por meio de análise bayesiana do STRUCTURE, baseada em 30 replicações para cada *k*. **C)** Delta *k* médio para cada cluster testado (1 a 20), obtido pelo método de Evanno et al. (2005). **D)** Valor de *k* médio obtido pelo método de Puechmaille (2016)..... 72

Figura 13. Padrão de distribuição de grupos genéticos de *Stryphnodendron adstringens* ao longo do espaço geográfico. **A)** Padrão encontrado apenas com os dados genéticos (STRUCTURE), pelo método de Puechmaille (2016). **B)** Grupos genéticos-geográficos de subpopulações de barbatimão, detectados por análise espacialmente explícita (TESS). 74

Figura 14. Análise de redundância RDA baseada entre dados genotípicos e três variáveis bioclimáticas, além da altitude. As setas mostram a força da correlação das variávies com os eixos de ordenação RDA1 e RDA2. Os círculos correspondem aos genótipos, e suas cores indicam cada subpopulação a qual os indivíduos pertencem. Variáveis consideradas na análise: ***Alt*** (Altitude); ***Saz-Temp*** (Sazonalidade da temperatura); ***IMD-Temp*** (Intervalo Médio Diurno – média mensal); ***QMU-Prec***: Precipitação do quadrimestre mais úmido. ..... .75

Figura 15. Agrupamentos genético-ambientais de *Stryphnodendron adstringens* indicados por meio de análise bayesiana, considerando, tanto informações genéticas quanto coordenadas geográficas e variáveis climáticas de cada subpopulação. Para cada mapa, as intensidades de cores representam as quantidades de ancestralidade genética (ou coeficientes de mistura individuais). **A)** Simulação do presente, indicando uma homogeneidade entre os grupos. Coeficientes de mistura previstos em dois cenários de mudanças climáticas futuras: **B)** menos pessimista (RCP 4.5) e **C)** mais pessimista (RCP 8.5). **D)** Coeficiente *turnover* intraespecífico medido pela correlação entre coeficientes de ancestralidade inferidos e previstos para todos os indivíduos e todos os grupos genético-ambientais. A partir do cenário 4.5, a maior parte dos clusters pode ser perdida com o aumento da temperatura.. 77

Figura 16. Padrões geográficos obtidos para a amostragem de 100 alelos ($fa > 0,05$) de nove marcadores microssatélites. **A)** A melhor solução para representar o maior número possível de alelos, com o menor número de subpopulações, indicou sete localidades, destacadas em preto. **B)** Mapa sintético do ranking das subpopulações, a partir do grau de insubstituibilidade. As áreas em preto apresentaram $IRR = 1$ e são consideradas prioritárias para a conservação. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Índices de diversidade e estrutura genética de plantas nativas do Cerrado brasileiro, com potencial de uso farmacológico. 23

Tabela 2. Espécies do gênero *Stryphnodendron* Mart. com ocorrência registrada no Brasil. São reconhecidas, até o momento, 21 espécies brasileiras, com duas variedades botânicas e duas subespécies. Dados retirados do Reflora (http://reflora.jbrj.gov.br/). 25

Tabela 3. Descrição dos locais de coleta de indivíduos de *Stryphnodendron adstringens* no Cerrado brasileiro. Foram coletados 605 indivíduos no total, distribuídos em 19 subpopulações. 41

Tabela 4. Relação das multiplex de aplicação para genotipagem de indivíduos de *Stryphnodendron adstringens*. Cada sequência forward dos iniciadores foi marcada com fluoróforos específicos (VIC – verde; FAM – azul; PET – vermelho; NED – amarelo). 43

Tabela 5. Modelo matemático exemplificando a decomposição dos componentes de variação para a análise de variância molecular com dados genotípicos. 46

Tabela 6. Análise de identidade genética para detecção de clones em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Foram encontrados clones em dez subpopulações. 55

Tabela 7. Estimativas descritivas da diversidade genética em *Stryphnodendron adstringens* para nove marcadores microssatélites, com base nos genótipos de 554 indivíduos. 57

Tabela 8. Avaliação dos nove locos microssatélites de Stryphnodendron adstringens com base nas proporções esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. O teste de significância dos desvios foi conduzido por meio de 10.000 permutações. Os valores destacados apresentaram desvios significativos após a aplicação do fator de correção FDR ($p < 0,05$). 58

Tabela 9. Estimativas das análises descritivas da diversidade genética encontrada em 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, com base em nove locos microssatélites. 59

Tabela 10. Estimativas obtidas pela análise de variância de frequências alélicas para as subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Mais de 16% da variação total corresponde à diferenciação entre as subpopulações. 61

Tabela 11. Dados encontrados na literatura para as principais estimativas genético-populacionais obtidas para *Stryphnodendron adstringens*. 61

Tabela 12. Descrição das seis classes de distâncias obtidas pelo correlograma de Mantel. Nesta análise, o espaço geográfico é decomposto em classes para verificar sua influência na distribuição da variabilidade genética em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. 67

Tabela 13. Resultados do teste de razão-M no modelo de duas fases (TPM) estimado para subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, a partir de nove locos microssatélites. A significância do teste foi obtida por meio de 10^6 permutações. 69

Tabela 14. Número de migrantes (M), em contexto histórico, obtido por análise de coalescência e tamanhos efetivos baseados em mutação em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. O número de migrantes para os pares de subpopulações está detalhado no Apêndice I. Os valores de θ são referentes ao produto entre tamanho efetivo populacional e as taxas de mutação dos marcadores microssatélites. 70

RESUMO

GONÇALVES, A.R. **Variabilidade genética e conservação de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae)**. 2020. 129 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.[1]

Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) é uma árvore nativa do Cerrado que apresenta múltiplos usos, especialmente medicinal. Tendo em vista sua importância etnobotânica e socioeconômica, é pertinente que seu recurso genético seja caracterizado, a fim de traçar estratégias mais eficazes para manejo e conservação. Nesse contexto, este trabalho teve o objetivo geral de avaliar a magnitude e a distribuição da variabilidade genética entre subpopulações de *S. adstringens*, visando a conservação da espécie. Foi avaliada a presença de agrupamentos genéticos e os níveis de diferenciação e fluxo gênico, a fim de testar a hipótese de isolamento por distância (IBD). Além disto, foi testada a influência dos componentes climáticos na distribuição da variabilidade genética de barbatimão, em cenários futuros. Para isso, foram genotipados nove locos microssatélites com 605 indivíduos provenientes de 19 populações locais do Cerrado. Com base nos resultados, verificou-se que barbatimão apresenta uma moderada diversidade genética ($\overline{He}$ = 0,594) e uma alta estruturação genética entre as subpopulações ($\bar{F}_{ST}$ = 0,165; $p < 0,01$), com baixos níveis de endogamia na maioria das subpopulações ($\bar{F}_{IS}$ = 0,029, $p > 0,05$). Detectou-se clonalidade em dez subpopulações, em maior frequência na subpopulação TERGO, caracterizando o sistema reprodutivo da espécie como sendo misto. Constatou-se que a distância geográfica exerce influência significativa na diferenciação genética das subpopulações, como em um modelo de isolamento por distância (r_m = 0,569, $p < 0,01$). Temperatura, precipitação e altitude são componentes que influenciam a distribuição da variabilidade genética, e consequente estruturação, em *S. adstringens* (R^2_{aju} = 0,081, $p < 0,001$). Além disto, as simulações advertiram mudanças na composição de grupos genéticos face às mudanças climáticas no futuro. Foi identificada uma descontinuidade genética na região do Rio Araguaia, possivelmente isolando CHGMT das demais subpopulações, que foi corroborado por análises bayesianas. Foram detectadas baixas taxas de fluxo gênico, com uma redução da conexão entre as subpopulações no contexto recente, que não foram capazes de neutralizar os efeitos da deriva genética. Houve evidências de gargalo recente em quatro subpopulações, que apresentaram níveis mais baixos de diversidade genética. A partir do grau de insubstituibilidade, foram indicadas seis subpopulações prioritárias para a conservação *in situ* de barbatimão, ou para a coleta de sementes como forma de complementar a conservação *ex situ* de recursos genéticos de *S. adstringens* e garantir a variabilidade genética da espécie a longo prazo.

Palavras-chave: Barbatimão; Genética da paisagem; Isolamento por distância; Mudanças climáticas; Sistema reprodutivo.

[1]Orientadora: Mariana Pires de Campos Telles

ABSTRACT

GONÇALVES, A. R. **Genetic variability and conservation of *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae)**. 2020. 129 p. Doctoral dissertation (Ph.D. in Genetics and Plant Breeding) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.[1]

Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) is a Cerrado's native tree that has multiple uses, especially medicinal. In view of its ethnobotanical and socioeconomic importance, it is pertinent that this genetic resource be characterized, in order to outline more effective strategies for its use and conservation. In this context, this work had the general objective of evaluating the magnitude and distribution of genetic variability among subpopulations of *S. adstringens*, aiming at the conservation of the species. The presence of genetic clusters and levels of genetic differentiation and gene flow were evaluated in order to test the hypothesis of isolation by distance (IBD). In addition, the influence of climatic components on the distribution of the genetic variability of barbatimão in future scenarios was tested. For this, nine microsatellite loci were genotyped with 605 individuals from 19 local populations in the Cerrado. Based on the results, it was found that barbatimão has a moderate genetic diversity ($\bar{H}e$ = 0.594) and a high genetic structure among the subpopulations ($\bar{F}_{ST}$ = 0.165; p < 0.01), with low levels of inbreeding in most of the subpopulations ($\bar{F}_{IS}$ = 0.029, p > 0.05). Clonality was detected in ten subpopulations, most frequently in the TERGO subpopulation, characterizing the mixed reproductive system of the species. It was found that geographic distance has a significant influence on the genetic differentiation of subpopulations, as in a model of isolation by distance (r_m = 0.569, p < 0.01). Temperature, precipitation and altitude are components that influence the distribution of genetic variability, and consequent structuring, in *S. adstringens* (R^2_{aju} = 0.081, p <0.001). In addition, the simulations warned of changes in the composition of genetic groups in the face of climate change in the future. A genetic discontinuity was identified in the Araguaia River region, possibly isolating CHGMT from other subpopulations, which was corroborated by Bayesian analyses. Low gene flow rates were detected, with a reduction in the connection between subpopulations in the recent context, which were not able to neutralize the effects of genetic drift. There was evidence of a recent bottleneck in four subpopulations, which showed lower levels of genetic diversity. Based on the degree of irreplaceable, six priority subpopulations were indicated for the conservation *in situ* of barbatimão, or for the collection of seeds as a way to complement the *ex situ* conservation of *S. adstringens* genetic resources and guarantee the long-term genetic variability of the species.

Keywords: Barbatimão; Landscape genetics; Isolation by distance; Climatic changes; Reproductive system.

[1]Advisor: Mariana Pires de Campos Telles

1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas e as recorrentes fragmentações de habitat impactam diretamente as populações, gerando perdas de biodiversidade, principal alvo da genética da conservação. Essas alterações de habitat criam descontinuidades na paisagem, reduzindo a conectividade genética e funcional entre populações (Fischer & Lindenmayer, 2007). A consequente subdivisão e o isolamento entre populações reduzem o sucesso de dispersão, além de comprometer a capacidade de adaptação de migrantes em outros fragmentos, podendo gerar um declínio na persistência das espécies e levá-las a extinção local em uma paisagem (With & King, 1999). O fluxo gênico é fundamental para a manutenção da viabilidade populacional a longo prazo, pois mantém a variabilidade genética local e dispersa genes potencialmente adaptativos, ao contrário da deriva genética. Além disso, as estimativas de fluxo gênico são úteis para inferir a conectividade funcional das populações através das paisagens (Van Dyck & Baguette, 2005). As ferramentas moleculares desempenham um papel cada vez mais importante para investigar as variações genéticas no tempo e no espaço geográfico, e como essas variações são influenciadas pelas condições ambientais. Essas questões levaram ao surgimento da genética da paisagem, um campo de pesquisa que integra teorias da genética de populações, ecologia da paisagem e estatística espacial (Manel et al., 2003; Holderegger & Wagner, 2008). A genética da paisagem, portanto, desempenha uma função extremamente relevante para o manejo e conservação das espécies (Segelbacher et al., 2010).

Desde a sua concepção, a genética da conservação tem focado nas consequências genéticas acarretadas por tamanhos efetivos reduzidos (Kramer & Havens, 2009). Estudos genético-populacionais indicam que a endogamia e pequenos tamanhos efetivos populacionais podem acarretar na redução da aptidão e adaptação de indivíduos a ambientes alterados (Brook et al., 2002). Assim, populações pequenas estão mais vulneráveis a eventos estocásticos, são mais susceptíveis a doenças e podem ser facilmente extintas por mudanças climáticas drásticas ou pela fragmentação e destruição de habitat (Kramer et al., 2008).

Entretanto, a conservação de habitat e de processos ecológicos já não é uma medida suficiente para driblar o avanço da fragmentação e degradação ambiental. O impacto das mudanças climáticas exige que as ações conservacionistas sejam tomadas em escalas locais, regionais, nacionais, até chegar em escala global. Só assim a sobrevivência das espécies vegetais de todo o mundo pode ser garantida (Kramer & Havens, 2009).

A necessidade de conservar espécies é cada vez mais urgente, principalmente devido à crescente evidência de possíveis impactos das mudanças climáticas na vegetação nativa do Brasil (Zanin et al., 2017; Velazco et al., 2019). A flora do Brasil exibe diversidade e endemismo em níveis notavelmente altos. Atualmente são reconhecidas 35.101 angiospermas, onde 18.886 são endêmicas do país, representando mais de 53% (Flora do Brasil, 2020). Dentre as 252 famílias registradas, Leguminosae (Fabaceae) se destaca como a segunda maior em grau de endemismo, ficando atrás apenas de Orchidaceae. Das 2.902 leguminosas descritas até hoje, 1.549 são endêmicas do país (Flora do Brasil, 2020). Considerando todos os biomas, estima-se que o país contenha aproximadamente 20% de toda a flora global, sendo 55% de cobertura vegetal nativa (Giulietti et al., 2005). Entretanto, grande parte da biodiversidade brasileira ainda é desconhecida e subutilizada (Heywood, 2013), graças à negligência de políticas públicas voltadas à conservação e uso sustentável dos recursos genéticos (Gardner et al., 2020).

Dentre os biomas brasileiros com abundância e riqueza de espécies animais e vegetais, destaca-se o Cerrado, segundo maior bioma do Brasil e da América do Sul, com área de 2.036.448 km^2 (MMA, 2009). Embora a Amazônia seja o maior bioma do Brasil, o Cerrado é o maior alvo dos impactos antropogênicos, principalmente para a expansão de fronteira agrícola (Nóbrega et al., 2020). Além da riqueza de espécies endêmicas, no Cerrado estão as nascentes de três grandes bacias hidrográficas da América do Sul: Amazônica/Tocantins, São Francisco e Prata, o que contribui para a grande biodiversidade encontrada no bioma (Carvalho & Tejerina-Garro, 2019; Martins et al., 2020). Devido a essa biodiversidade particular e à grande perda de habitats, a savana brasileira é considerada um dos *hotspots* mundiais de conservação (Myers et al., 2000).

O Cerrado, além do contexto ambiental, denota elevada importância socioeconômica, já que muitas populações necessitam de seus recursos biológicos para sobreviver (Scariot et al., 2005). Neste bioma, já foram catalogadas 12.415 espécies de plantas nativas e, em contrapartida, cerca de 20% delas já não ocorrem em áreas de proteção ambiental (Mendonça et al., 2008; Flora do Brasil, 2020). Desta maneira, o planejamento de

ações para mitigar os efeitos das mudanças climáticas e exploração desenfreada dos recursos genéticos do Cerrado é tarefa fundamental e emergente (Siqueira & Peterson, 2003). Estima-se que mais de 220 espécies vegetais apresentem potencial de uso no âmbito medicinal, além de tantas outras que poder ser utilizadas na recuperação de áreas degradadas ou para criação de novos habitats contra pragas (Neto et al., 2020). Para isto, é relevante que a diversidade genética dessas espécies seja conhecida, para que medidas de conservação eficientes sejam tomadas. A manutenção dessa diversidade é crucial para que as espécies consigam se adaptar às mudanças ambientais (Jump et al., 2009).

Dentre as espécies nativas com potencial medicinal encontra-se *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, pertencente à família Leguminosae, com nome vernáculo barbatimão. Trata-se de uma árvore endêmica do Brasil com ampla distribuição, que ocorre nos biomas Cerrado e Caatinga, especialmente nas fitofisionomias de cerrado *lato sensu* e campo rupestre (Souza & Lima, 2020). É uma espécie andromonoica, que tem como abelhas seus principais polinizadores (Ortiz et al., 2003) e a dispersão de suas sementes ocorre, principalmente, por autocoria (Felfili et al., 1999; Pilon et al., 2015). A dispersão zoocórica ocorre de forma secundária por meio de pequenos roedores (Oliveira, 1991; Felfili et al., 1999). O barbatimão demonstra ser um valioso recurso biológico, sendo fonte de matéria-prima na produção de fitoterápicos e pomadas, graças às suas propriedades bioquímicas, incluindo a alta produção de taninos, importantes compostos secundários capazes de proteger a planta contra a ação de agentes externos, como herbivoria, radiação solar e patógenos (Carvalho et al., 2014).

A inclusão de plantas nativas a sistemas agrícolas tradicionais é relevante para o crescimento econômico do país. Para que isso se torne possível, é imprescindível que se conheça diversas características biológicas e agronômicas da espécie-alvo (Almeida et al., 1998). A compreensão da biologia da espécie, aliada ao entendimento da distribuição da variabilidade genética na paisagem, garantem um planejamento de conservação adequado. Assim, é necessário considerar que, quanto maior for o impacto em determinada paisagem ou habitat, mais desafiadora será a conservação da variabilidade genética de uma espécie (Rhodes Jr. & Chesser, 1994; Hindley et al., 2018). Nesse contexto, há poucos estudos genéticos focados em *S. adstringens* (Mendonça et al., 2012; Glasenapp et al., 2014; Braga, 2019). Estudos a nível populacional são relevantes, pois trazem recomendações importantes para a conservação de espécies a longo prazo, a fim de garantir seu potencial evolutivo,

destacando possíveis locais para conservação *in situ* ou para coleta de sementes e plantas para coleções de germoplasma e bancos de sementes *ex situ* (Gardiner et al., 2017).

Assim, esta tese tem como objetivo geral avaliar a magnitude e a distribuição da variabilidade genética entre subpopulações de *S. adstringens*, visando a conservação da espécie. Para isto, foram determinados os seguintes objetivos específicos:

i. Conhecer o nível de diversidade e sua distribuição em subpopulações naturais de *S. adstringens* no Cerrado;
ii. Avaliar o sistema reprodutivo da espécie, a partir da presença de clonalidade e taxas de fecundação cruzada aparente;
iii. Testar se as subpopulações seguem um modelo de isolamento por distância;
iv. Investigar a influência dos componentes climáticos na distribuição da variabilidade genética entre as subpopulações de *S. adstringens*;
v. Estimar as taxas de fluxo gênico histórico e recente entre as subpopulações, identificando possíveis barreiras físicas e/ou genéticas;
vi. Simular os efeitos das mudanças climáticas na composição genética de indivíduos de *S. adstringens* em dois cenários futuros;
vii. Utilizar dados genéticos para indicar áreas prioritárias para a conservação de *S. adstringens.*

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS FITOGENÉTICOS DO CERRADO

Os recursos genéticos vegetais (RGVs), segundo a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), são integrantes dos recursos biológicos e compreendem as informações genéticas de valor real ou potencial para a humanidade, que podem ser categorizados a partir de uma variedade de critérios (Brasil, 2000). Do ponto de vista do manejo e conservação, destacam-se: o nível de organização biológica (Frankel et al., 1995), adaptação ecogeográfica e genética, intensidade de seleção artificial e seus papeis e usos pelos seres humanos (Graudal et al., 2014).A conservação dos RGVs envolve o gerenciamento e uso destes recursos de uma maneira sustentável, para que não ocorra seu esgotamento. Assim, seu principal objetivo é salvaguardar a diversidade genética vegetal e/ou compensar a sua perda ocasionada por causas diversas, em benefício das gerações atual e futuras (Bretting & Duvick, 1997, Goedert, 2007). Existem várias formas de conservação dos RGVs, dentre elas há duas abordagens principais: a conservação *in situ* e *ex situ*, que se complementam (Henry, 2006). Basicamente, a conservação *in situ* garante que as espécies experimentem os processos evolutivos em seu habitat natural, onde desenvolveram suas propriedades características. Já a conservação *ex situ*, que envolve a manutenção das espécies fora de seu habitat natural, deve vir como um complemento à abordagem *in situ*, sempre que possível (Prance, 2006).

Com o aumento das populações humanas, a modificação e destruição de habitats ocorreram de forma diretamente proporcional, sendo uma das principais causas de extinção de muitas espécies vegetais e perdas de grupos genéticos (Bretting & Duvick, 1997). Dentro deste contexto, o Cerrado se destaca como um bioma extremamente rico em biodiversidade e constantemente ameaçado pelas ações antrópicas no Brasil, sendo considerado um dos 25 *hotspots* de conservação da biodiversidade mundial (Myers et al., 2000; Mittermeier et al.,

2004). Embora seja um dos biomas mais ricos do Brasil, em termos de fauna e flora, essa biodiversidade está seriamente ameaçada, principalmente pelas ações antrópicas, como a conversão das paisagens para áreas de monocultura e estradas, causadas pela expansão agrícola (Klink e Machado, 2005; Silva et al., 2006). Além disto, este bioma apresenta uma baixa representatividade de áreas protegidas (Silva et al., 2006).

Este bioma, com 2.036.448 km^2 de área, é composto principalmente por savanas, além de vários tipos florestais e comunidades xerófitas que formam mosaicos com savanas (Silva et al., 2006), causados principalmente pela alta heterogeneidade ambiental dessa região, ocasionada por diferentes processos geológicos e climáticos (Collevatti et al., 2013). Essa heterogeneidade explica a ocorrência de mais de doze mil espécies de plantas vasculares nativas (Mendonça et al., 2008) e 4.151 espécies endêmicas (Forzza et al., 2010), evidenciando a ampla diversidade deste bioma.

Embora a riqueza do Cerrado seja reconhecida, ainda há uma enorme carência de estudos etnobotânicos e do potencial extrativista da maioria das espécies deste bioma (Felfili et al., 1998), sendo que a maior parte da exploração da flora resume-se ao conhecimento popular (Souza & Felfili, 2006). Diversas propriedades medicinais são descritas na literatura para diversas espécies nativas, tais como ações antifúngicas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, dentre outras (Souza & Felfili, 2006; Novaes et al., 2013). Desta forma, são necessárias orientações de como aproveitar melhor esses recursos biológicos, visando tanto o melhoramento genético quanto o manejo sustentável para a sua produção (Ribeiro et al., 2008).

A conservação de habitats naturais ainda é a melhor maneira de garantir a continuidade das interações ecológicas e dos processos evolutivos das espécies. Entretanto, como a degradação dos ambientes ainda é recorrente, a conservação *in situ* pode não ser uma alternativa para algumas espécies vegetais. Dessa forma, as medidas *ex situ* e/ou *in vitro* podem ser uma ótima opção para manter a variabilidade genética dessas espécies (Kramer & Havens, 2009). Uma das formas de mensurar essa variabilidade, é a aplicação de ferramentas estatísticas provenientes da teoria da genética de populações e da conservação. As informações obtidas por meio de marcadores moleculares são valiosas, tanto para a conservação quanto para o manejo adequado de espécies silvestres e domesticadas, uma vez que é possível definir as relações evolutivas, estruturas populacionais, mensurar as distâncias de dispersão de pólen e sementes, como forma de entender o sistema reprodutivo das

espécies. Essas estimativas, e tantas outras, são capazes de estruturar decisões futuras, a fim de garantir a conservação de uma população viável, no sentido evolutivo (Henry, 2006).

Nas últimas décadas, foram desenvolvidos alguns estudos no sentido de fornecer dados importantes sobre a genética populacional de leguminosas de importância medicinal (Tabela 1). A diversidade genética variou muito entre as espécies, desde níveis baixos em *E. velutina* ($\overline{H}e$ = 0,36), a altos níveis, como em *C. langsdorfii* ($\overline{H}e$ = 0,80). A distribuição da variabilidade genética também variou bastante nas populações amostradas (Tabela 1). Foram encontrados baixos níveis de estruturação genética em *C. langsdorfii* (F_{ST} = 0,04), *Pterodon pubescens* (F_{ST} = 0,08) e *A. colubrina* (F_{ST} = 0,09), até altos níveis em *D. mollis* e *E. velutina*, ambas com F_{ST} = 0,18, e *D. alata* com o maior índice (F_{ST} = 0,27). A endogamia intrapopulacional, assim como os demais índices citados, variou em cada estudo, esclarecendo alguns aspectos sobre o sistema reprodutivo dessas espécies (Tabela 1).

Tabela 1. Índices de diversidade e estrutura genética de plantas nativas do Cerrado brasileiro, com potencial de uso farmacológico.

Espécie	Nº Locais	Marcador /Qtde.	N	$\overline{H}e$	f	F_{ST}	Referência
Anadenanthera colubrina	2	SSR/14	60	0,59	0,31	0,09	Feres (2013)
Copaifera langsdorffii	3	SSR/6	90	0,80	0,34	0,04	Martins et al. (2008)
Dimorphandra mollis	17	SSR/7	371	0,61	0,05	0,18	Souza et al. (2017)
Dipteryx alata	25	SSR/8	644	0,43	0,17	0,27	Collevatti et al. (2013)
Erythrina velutina	5	ISSR/8	108	0,36	-	0,18	Souza et al. (2016)
Plathymenia reticulata	2	SSR/11	51	0,74	0,01	-	Cruz et al. (2012)
Pterodon pubescens	19	SSR/10	448	0,77	0,13	0,08	Aguiar (2019)

A conservação das espécies nativas pode ser mais estimulada caso haja um maior incentivo ao seu cultivo. No entanto, a maior parte dos produtos comercializados no Brasil são provenientes de espécies exóticas, apontando a relevância de que os recursos genéticos de espécies nativas do país sejam reconhecidos (Alves & Azevedo, 2018). Além disto, é importante elencar as diversas fitofisionomias do Cerrado e os padrões florísticos nele presentes, para assegurar que a biodiversidade seja conservada em nível máximo, ressaltando que cada espécie apresenta formas de distribuição particulares pelo bioma, e isso deve ser levado em consideração para um manejo sustentável (Bridgewater et al., 2004).

2.2 A ESPÉCIE *STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS*

2.2.1 Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica

Stryphnodendron adstringens Mart. (Coville) é uma espécie do clado mimosoid (LPWG, 2017), pertencente à subfamília Caesalpinoideae e família Leguminosae (ou Fabaceae Lindl.), é considerada a primeira espécie-tipo do gênero *Stryphnodendron* Mart. (Scalon, 2007). Apresenta os seguintes nomes vernáculos: "barbatimão", "barbatimão-verdadeiro", "barba-de-timão", "chorãozinho-roxo", "casca-da-virgindade", "faveira" e "barbatimão-branco" (Scalon, 2015). Possui as seguintes sinonímias: *Acacia adstringens* Mart., *Mimosa barbadetiman* Vell., *Mimosa virginalis* Arruda (Lorenzi, 2000), com sinônimos relevantes *Stryphnodendron barbatimam* (Vell.) Mart., *S. barbadetiman* (Vell.) Mart. (Scalon, 2015; Souza & Lima, 2020).

Segundo os bancos de dados *The Plant List* (http://www.theplantlist.org) e *Reflora* (http://reflora.jbrj.gov.br), o genêro *Stryphnodendron* Mart. compreende até o momento 29 táxons, sendo 25 espécies, duas subespécies e duas variedades botânicas. Pode ser considerado um gênero tipicamente brasileiro, pois mais de 86% das espécies ocorrem no país (Tabela 2). Apenas quatro espécies foram registradas fora do Brasil: a espécie *S. excelsum* Harms, antes considerada *S. microstachyum*, com ocorrência na Nicarágua, Costa Rica e Panamá; *S. levelii* R.S. Cowan, na Venezuela; *S. moricolor* Barneby & J. W. Grimes, na Guiana Francesa e *S. porcatum* D. A. Neill & Occhioni f., no Equador. A espécie *S. flammatum* Kleinhoonte foi descrita no Suriname em 1926, mas há algumas ressalvas se essa espécie realmente se enquadra no gênero *Stryphnodendron* (Scalon, 2007).

Stryphnodendron é um gênero com ampla distribuição na Região Neotropical e predominância na América do Sul, tendo como limite norte a Nicarágua e limite sul as áreas de cerrado no norte do estado do Paraná. Os principais centros de distribuição das espécies deste gênero são a Amazônia e o Brasil Central, sendo que os táxons encontrados fora da região amazônica ocorrem principalmente em áreas de Cerrado (Scalon, 2007), como é o caso de *S. adstringens*.

Tabela 2. Espécies do gênero *Stryphnodendron* Mart. com ocorrência registrada no Brasil. São reconhecidas, até o momento, 21 espécies brasileiras, com duas variedades botânicas e duas subespécies. Dados retirados do Reflora (http://reflora.jbrj.gov.br/).

Espécie	DF	TV	Ocorrência	Obs.:
Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville	Caatinga, Cerrado	Campo Rupestre, Cerrado (*lato sensu*)	Norte (Tocantins) Nordeste (Bahia) Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) Sudeste (Minas Gerais, São Paulo) Sul (Paraná)	
Stryphnodendron barbatulum Rizzini & Heringer	Cerrado	Cerrado (*lato sensu*)	Endêmica do DF	
Stryphnodendron confertum Heringer & Rizzini	Cerrado	Cerrado (*lato sensu*)	Goiás e DF	
Stryphnodendron coriaceum Benth.	Caatinga, Cerrado	Cerrado (*lato sensu*)	Norte (Tocantins) Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí) Centro-Oeste (Goiás) Sudeste (Minas Gerais)	
Stryphnodendron cristalinae Heringer	Cerrado	Campo Limpo, Cerrado (*lato sensu*)	Centro-Oeste (Goiás)	
Stryphnodendron duckeanum Occhioni	Amazônia	Floresta Ciliar ou Galeria	Norte (Acre, Amazonas, Rondônia)	
Stryphnodendron fissuratum E.M.O.Martins	Cerrado	Cerrado (*lato sensu*), Floresta Estacional Semidecidual	Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso)	
Stryphnodendron foreroi E.M.O.Martins	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Amazonas, Rondônia) Centro-Oeste (Mato Grosso)	
Stryphnodendron gracile Heringer & Rizzini	Cerrado	Campo Rupestre, Cerrado (*lato sensu*), Floresta Ciliar ou Galeria, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos	Sudeste (Minas Gerais)	
Stryphnodendron guianense (Aubl.) Benth.	Amazônia, Caatinga	Floresta de Terra Firme, Floresta de Várzea	Norte (Acre, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins) Nordeste (Ceará, Maranhão)	**Subespécies:** *Stryphnodendron guianense* (Aubl.) Benth. subsp. *guianense*, *Stryphnodendron guianense* subsp. *glandulosum* Forero
Stryphnodendron heringeri Occhioni	Cerrado	Campo Limpo, Cerrado (*lato sensu*)	Centro-Oeste (Goiás)	

Continuação...

Espécie	DF	TV	Ocorrência	Obs.:
Stryphnodendron microstachyum Poepp. & Endl.	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Acre, Amazonas, Pará) Centro-Oeste (Mato Grosso)	
Stryphnodendron occhionianum E.M.O.Martins	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Amazonas, Pará, Roraima)	
Stryphnodendron paniculatum Poepp. & Endl.	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Amazonas, Pará)	
Stryphnodendron polyphyllum Mart.	Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica	Caatinga (*stricto sensu*), Cerrado (*lato sensu*), Floresta Estacional Semidecidual	Nordeste (Bahia) Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo)	
Stryphnodendron polystachyum (Miq.) Kleinh.	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Amazonas, Pará) Nordeste (Maranhão)	
Stryphnodendron pulcherrimum (Willd.) Hochr.	Amazônia, Mata Atlântica	Floresta de Igapó, Floresta de Terra Firme, Floresta Ombrófila (= Floresta Pluvial), Restinga, Savana Amazônica	Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima) Nordeste (Alagoas, Bahia, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe) Centro-Oeste (Mato Grosso)	
Stryphnodendron pumilum Glaz.	Cerrado	Cerrado (*lato sensu*)	Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás)	
Stryphnodendron racemiferum (Ducke) W.A.Rodrigues	Amazônia	Floresta de Terra Firme	Norte (Amazonas, Pará, Roraima)	
Stryphnodendron roseiflorum (Ducke) Ducke	Amazônia, Mata Atlântica	Floresta Estacional Semidecidual, Savana Amazônica	Norte (Amazonas, Pará) Sudeste (Minas Gerais)	
Stryphnodendron rotundifolium Mart.	Caatinga, Cerrado, Pantanal	Campo Limpo, Campo Rupestre, Cerrado (*lato sensu*)	Norte (Amazonas, Pará, Tocantins) Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí) Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) Sudeste (Minas Gerais, São Paulo) Sul (Paraná)	**Variedades:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. var. *rotundifolium*, *Stryphnodendron rotundifolium* var. *villosum* (Benth.) Scalon

***DF*:** Domínio Fitogeográfico; ***TV*:** Tipo de vegetação.

Stryphnodendron adstringens é uma espécie endêmica do Brasil, com ampla distribuição pelo país, e predominância no Cerrado em fitofisionomias de cerrado *lato sensu*, com ocorrência catalogada também em cerradão, campos cerrados, campos sujos e campos rupestres, sendo o limite sul de sua distribuição o estado do Paraná, além de ocorrer também na Caatinga, em menor escala (Scalon, 2015). As áreas de maior ocorrência da espécie estão nos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais e São Paulo, em ambientes secos e abertos (Scalon, 2007). Barbatimão é uma espécie secundária tardia (Meira et al., 2013), que pode ocorrer ainda em locais alterados, tais como lotes baldios e beiras de estradas, que antes eram ocupados por cerrados (Scalon, 2007). Sua densidade populacional varia muito de acordo com a fitofisionomia, localização, tipo de solo e se houve queimadas no local, tendo registros de até 185 indivíduos por hectare (Silva et al., 2002). Após queimadas, a densidade populacional é bastante comprometida, podendo chegar até dez indivíduos/hectare (Fiedler et al., 2004). Ocorre principalmente em solos profundos, em latossolos ou regiões com areia quartzosa (Felfili & Borges-Filho, 2004). É uma espécie bastante adaptada a solos pouco férteis, mas responde muito bem na presença de mais nutrientes (Moraes, 1994).

2.2.2 Descrição botânica e fenológica

S. adstringens é uma planta de hábito arbóreo (Figura 1A), de pequeno a médio porte, não chegando a subarbusto, podendo alcançar até cinco metros, com um tronco áspero, de cor clara, grosso e tortuoso (Oliveira, 1991; Felfili & Borges-Filho, 2004). É uma espécie perene com fenologia brevidecídua, em que há troca foliar em um curto período de tempo no ano, compreendendo no máximo três semanas (Silva, 2014). Seu pecíolo tem entre 6,5 e 9 cm e suas folhas são compostas bipinadas (Figura 1B), com intenso desenvolvimento de folhas novas no início do período chuvoso (Felfili & Borges-Filho, 2004). As inflorescências da espécie são do tipo racemo (Figura 1B), de cor creme a amarelada, que produzem em média 329 flores, mais densamente dispostas na porção central, onde é mais comum encontrar as flores hermafroditas. Já, ao longo da inflorescência é possível encontrar tanto flores pistiladas quanto hermafroditas, o que a caracteriza como uma espécie andromonoica (Ortiz et al., 2003). Há relatos de rara ocorrência de flores femininas em alguns espécimes, porém eles apresentam esterilidade (Oliveira, 1991).

A floração ocorre na mesma época em que novas folhas são emitidas, principalmente no período mais seco do ano, geralmente no mês de setembro (Felfili et al.,

1999). As flores apresentam antese diurna sincrônica e vida útil de um dia, com aroma frutado suave, os estames têm glândulas apicais e néctar presentes em pequena quantidade (Oliveira, 1991), sendo o pólen a maior recompensa dos polinizadores (Firetti, 2001). As flores hermafroditas são responsáveis pela maior quantidade de secreção de néctar, entretanto, a maior produção de pólen ocorre nas flores exclusivamente masculinas (Ortiz et al., 2003).

Figura 1. Aspectos biológicos da espécie *Stryphnodendron adstringens*. **A**) Porte arbóreo. Foto tirada na coleção de germoplasma na RPPN EcoCerrado – Araxá, Minas Gerais (Mariana Telles); **B**) Inflorescência em formato de espiga e folhas compostas bipinadas (Foto: Rubens Queiroz); **C**) Frutos em formato de vagem; **D**) Fruto deiscente, com sementes oblongoides (Fotos: Mariana Telles).

O barbatimão é uma espécie melitófila e inseto-generalista, tendo como principais polinizadoras pequenas abelhas da ordem Hymenoptera, tais como *Exomalopsis analis* e *Exomalopsis* sp. (Anthophoridae), *Scaptotrigona depilis* e *Geotrigona* sp. (Apidae,

Meliponinae) e *Augochloropsis* sp. (Halictidae). Há, também, relatos de visitas de insetos da ordem Diptera, Lepidoptera e Coleoptera, porém em uma frequência bem menor do que as espécies de abelhas (Ortiz et al., 2003). Assim, o alcance de dispersão de pólen na espécie pode variar, de acordo com o comportamento do polinizador, podendo chegar de 250 m, como registrado em pequenas abelhas (Gathmann & Tscharntke, 2002), até 1710 m, registrados em espécies do gênero *Scaptotrigona* sp. (Araújo et al., 2004).

Os frutos de barbatimão são vagens grossas e carnudas (Figura 1C), de cor marrom clara quando maduras, com endocarpo macio e fibroso. As sementes apresentam cor castanho-avermelhadas (Figura 1D), de forma elipsoide a oblongoide e ligeiramente compressas (Felfili & Borges-Filho, 2004). Todos os processos fenológicos desta espécie têm seu pico na estação mais seca, incluindo a dispersão das sementes que ocorre, principalmente, por autocoria (Felfili et a., 1999; Pilon et al., 2015), em que as vagens amadurecem, secam, e caem abaixo da planta mãe. A dispersão zoocórica pode ocorrer, mas de forma secundária, sendo pequenos roedores os prováveis agentes dispersores (Oliveira, 1991; Felfili et al., 1999). Estudos intrapopulacionais indicam que o padrão de distribuição de *S. adstringens* é agregado (Dias Neto et al., 2008; Meira et al., 2016), que se deve principalmente ao modo de dispersão da semente por autocoria e os descendentes permanecem próximos à planta-mãe (Carvalho et al., 2009).

É relatado um alto índice de autocompatibilidade (Firetti, 2001), entretanto, experimentos de polinização cruzada e polinização geitonogâmica, obtiveram 35,48% e 2,82% frutos, respectivamente. Essa baixa produção de frutos gerados por autofecundação caracteriza a espécie como autoincompatível, evidenciando que a fecundação cruzada é vital para a produção de frutos e perpetuação de *S. adstringens* (Ortiz et al., 2003). Embora a inflorescência tenha uma grande quantidade de flores, a produção de frutos é muito baixa na espécie, com cerca de 0,52% de frutos viáveis (Firetti, 2001). Além disso, essa produção é dependente da disponibilidade de recursos maternos, não sendo limitada pelo fluxo de pólen, o que pode acarretar em consequências evolutivas para a espécie, uma vez que a planta não pode abortar seletivamente sementes de baixa qualidade (Ortiz et al., 2003). Além da reprodução sexuada, a propagação da espécie pode ocorrer também de forma vegetativa, geralmente por origem traumática, emitindo raízes gemíferas (Rizzini & Heringer, 1966) e produzindo indivíduos de hábito arbustivo a subarbustivo (Melo et al., 1998). Após queimadas, também é comum observar rebrotas de origem caulinar (Diniz & Franceschinelli, 2014).

2.2.3 Propriedades bioquímicas e potencial de uso

A propriedade medicinal do barbatimão há tempos é reconhecida, tendo relatos de Auguste de Saint-Hilaire e demais naturalistas europeus que vieram ao Brasil ainda no século XIX (Brandão et al., 2012). Dentre as espécies do gênero *Stryphnodendron*, *S. adstringens* é a que mais se destaca pela sua alta produção de taninos, sendo que sua casca pode conter até 22,6% deste composto fenólico (Primo, 1945), inclusive essa característica foi a que originou o nome do gênero, onde *Stryphnos* significa adstringente e *dendron*, madeira (Scalon, 2007). Em buscas na literatura, a maioria dos trabalhos tendo barbatimão como objeto de estudo está relacionada principalmente às propriedades medicinais e biológicas da espécie (veja Souza-Moreira et al., 2018; Pellenz et al., 2019, para revisão).

S. adstringens, assim como outras espécies do gênero, é utilizada de maneira empírica, sendo a casca a matéria-prima mais utilizada na maioria dos tratamentos contra infecções vaginais e urinárias, feridas na pele e úlceras (Souza-Moreira et al., 2018). Os extratos provenientes da casca contêm propriedades antioxidantes (Souza-Moreira et al., 2007; Baldivia et al., 2018; Sabino et al., 2018), anti-inflamatórias (Henriques et al., 2016), antiulcerogênicas (Audi et al., 1999; Martins et al., 2002), antimicrobianas (Ishida et al., 2009; Santos et al., 2009; Pinho et al., 2012), além de potencial ação anticarcinogênica contra células tumorais (Baldivia et al., 2018; Kaplum et al., 2018), incluindo câncer de mama (Sabino et al., 2018).

A alta eficácia de extratos de casca e folhas de barbatimão deve-se, principalmente, pela presença de moléculas bioativas, tais como taninos, flavonoides e saponinas. A partir destes estudos, foi registrada na ANVISA uma pomada tópica, comercializada como Fitoscar® (nº 101180605), que contém 60 mg de extrato seco de barbatimão a cada grama de pomada (Brasil, 2014). Esta pomada concentra 30 mg de fenóis totais e 27 mg de taninos totais e, portanto, atua como agente cicatrizante para lesões de várias naturezas (Pellenz et al., 2019).

Em estudo clínico recente, observou-se que *S. adstringens* pode ser usado na cicatrização de feridas crônicas, causadas por traumas físicos intensos ou cirurgias. Este efeito se deve, principalmente, pela alta concentração de taninos, tais como EGCG (epigalocatequina-3-galato) e ácido gálico (Pellenz et al., 2019). A molécula bioativa EGCG, além de ser um antioxidante, com propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, regula a secreção de citocinas na pele e ativa as células no processo de cicatrização de feridas (Fujiki

et al., 2017), além de angiogênese (Lima et al., 2016). Os extratos da casca contêm, ainda, proantocianidinas, outra classe condensada de taninos, que interagem com proteínas e outros compostos orgânicos (Adamczyk et al., 2017), garantindo as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes de barbatimão (Souza-Moreira et al., 2018).

Tendo em vista a importância do barbatimão na fitoterapia, houve incentivo de seu uso a partir de políticas públicas, resultando em várias fórmulas com extratos da casca que foram patenteadas (Souza-Moreira et al., 2018; Braga, 2019). Atividades antiprotozoárias e antivirais também são uma área de estudo a serem exploradas e parecem ser bastante promissoras (Souza-Moreira et al., 2018). Inclusive, uma pomada contendo várias espécies de "barbatimão" foi patenteada para uso contra o HPV (papilomavírus humano) e na prevenção de câncer cervical (Lins-Neto et al., 2015). Dessa forma, o barbatimão é considerado um valioso recurso genético, que pode ser utilizado de forma eficaz no âmbito da fitoterapia e no tratamento de doenças crônicas (Pellenz et al., 2019). Entretanto, devido ao baixo sucesso de produção de frutos e à ausência de cultivo, tanto as sementes quanto a pomada produzida, são caros. Por exemplo, cerca de 250 gramas de sementes custam, em média, R$ 80,00 (Meira et al., 2013), enquanto que a pomada custa entre R$50,00 e R$70,00.

Devido às propriedades medicinais já citadas, algumas populações naturais de barbatimão têm sido amplamente afetadas pelo extrativismo descontrolado, pois nenhuma empresa, seja farmácia de manipulação ou laboratório farmacêutico, possui reserva extrativista ou cultiva essa espécie (Borges-Filho & Felfili, 2003). A falta de orientação sobre o manejo adequado resulta em extrações da casca que podem comprometer a sobrevivência da planta, deixando-a susceptível ao ataque de microrganismos e outras intempéries, e comprometem o processo de regeneração natural e densidade populacional (Borges-Filho & Felfili, 2003). Além disto, essas populações naturais ficam vulneráveis às ações de processos estocásticos, correndo risco de erosão genética e até mesmo a extinção.

Dessa forma, é imprescindível que medidas de conservação e manejo sustentável sejam conduzidas, a fim de garantir a manutenção da diversidade genética da espécie. Neste sentido, foi criada uma coleção de germoplasma de várias espécies nativas medicinais, incluindo *S. adstringens* (Corrêa, 2007), a fim de preservar a composição química e as propriedades biológicas dessas espécies e viabilizar o cultivo comercial e a domesticação no futuro. Esta coleção foi implementada em 2007 na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) no município de Araxá – Minas Gerais, e foi nomeada Ecocerrado Brasil, que

atualmente conta com mais de mil acessos de barbatimão, conservados *ex situ* e *in vivo*, provenientes de várias regiões do Brasil (Corrêa et al., 2012). A partir dessa iniciativa, foram conduzidos outros estudos desde testes de germinação a avaliação de teor de taninos, que são informações fundamentais para programas de melhoramento genético.

2.2.4 Estudos genéticos

A investigação cariotípica de mimosóideas indicou que espécies deste clado apresentam, em sua maioria, número básico de $x = 13$, e que houve evento de poliploidia ancestral seguido de disploidia descendente nessas espécies. *S. adstringens* trata-se, portanto, de uma espécie diploide com $x = 13$, e $2n = 26$ cromossomos, como todas as outras espécies do gênero *Stryphnodendron* (Santos et al., 2012).

A filogenia molecular do gênero *Stryphnodendron* indicou uma relação muito próxima entre as espécies de ambientes savânicos, tais como *S. adstringens* e *S. rotundifolium* (Simon et al., 2016). Vale destacar que *S. adstringens* ocorre em simpatria com *S. rotundifolium* var. *rotundifolium* e são muito semelhantes morfologicamente, com diferenças mais marcantes em seus frutos (Scalon, 2007). Já a espécie *S. polyphyllum* foi agrupada em outro ramo da árvore, demonstrando que a evolução e a diversificação morfológica do grupo ocorreram rapidamente (Simon et al., 2016).

No contexto genético-populacional poucos trabalhos foram conduzidos com *S. adstringens*. Lima (2010) avaliou cinco pontos de coleta de três municípios do estado de São Paulo (Botucatu, Itu e Avaré), com 39 indivíduos amostrados em cada uma das localidades. Os genótipos foram obtidos a partir de dez marcadores microssatélites transferidos. Além disto, foi realizado um estudo intrapopulacional na Floresta Estadual de Botucatu, com 38 indivíduos. A maior variabilidade genética foi encontrada dentro das populações e a estrutura espacial intrapopulacional foi baixa, porém significativa (Lima, 2010).

Em um estudo com doze populações provenientes dos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo, foi estimada a diversidade genética intra e interpopulacional e testada a correlação entre a distância genética e a produção de taninos (Mendonça et al., 2012). Os genótipos foram obtidos por marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* = Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado). Foi detectada uma estrutura genética alta e significativa ($F_{ST} = 0{,}2906$, $p < 0{,}05$) entre as populações, porém não foi verificado um padrão espacial significativo na distribuição da variabilidade genética.

Adicionalmente, foi constatado que indivíduos cuja produção de taninos excede os 40% tendem a ser similares geneticamente, ou seja, a distância genética aumenta entre indivíduos com produção média ou baixa desse composto secundário. Essas informações são bastante pertinentes para o melhoramento genético da espécie, uma vez que é possível indicar populações de elite que produzem maior quantidade de taninos (Mendonça et al., 2012).

A diversidade genética de *S. adstringens* também foi estimada a partir de marcadores isoenzimáticos (Glasenapp et al., 2014). As coletas foram realizadas em três populações localizadas em Unidades de Conservação do estado de Minas Gerais, totalizando 105 indivíduos. Os valores de heterozigosidade obtidos foram próximos aos de outras arbóreas tropicais, indicando níveis moderados de diversidade genética. Além disto, foi constatada endogamia intrapopulacional nula (f = -0,114), indicando panmixia em todas as populações avaliadas neste estudo, e moderada estrutura genética interpopulacional (F_{ST} = 0,105), valores próximos aos encontrados por marcadores AFLP (Glasenapp et al., 2014).

Estudos genômicos indicaram que o genoma cloroplastidial de *S. adstringens* contém cerca de 111 genes funcionais, dentre os quais 77 são codificadores de proteínas. A avaliação do cloroplasto em comparação com outras mimosóideas indicou que o conteúdo e a síntese de genes são bastante conservados no clado (Souza et al., 2019). Já no genoma nuclear, foram anotados mais de 31 mil genes codificadores de proteínas, sendo que aproximadamente 1,58% dos transcritos estão relacionados às sequências de proteínas envolvidas em vias metabólicas de biossíntese de taninos (Souza, 2019). A partir desses resultados, novos marcadores, podem ser descritos e caracterizados a fim de trazer informações evolutivas sobre a espécie, além de contribuir para estudos genéticos em outros níveis taxonômicos (Souza, 2019). A partir deste estudo, foram desenhados os *primers* para os marcadores microssatélites utilizados nesta tese (Gonçalves et al., *no prelo*). Adicionalmente, marcadores SNP são uma alternativa interessante para estudos futuros, já que esses marcadores podem estar relacionados à produção de taninos, sendo oportuno seu estudo para fins de melhoramento genético da espécie.

As simulações de modelagem de nicho ecológico detectaram que pode ter havido uma retração nas áreas de maior adequabilidade para a espécie. Há, aproximadamente 21.000 anos, durante o Último Máximo Glacial, *S. adstringens* tinha uma maior predominância no Cerrado, estendendo-se até a região de fronteira do que hoje é a Floresta Amazônica. Simulações indicam que, no presente, a maior adequabilidade está na região central do

Cerrado e, com as mudanças climáticas, tende a se retrair ainda mais e se concentrar ao sul do bioma, em cenários futuros (Barbosa et al., 2019).

Análises filogeográficas realizadas com 17 populações de barbatimão indicaram alta estruturação genética espacial e baixa diversidade genética, evidenciada pela presença de poucos haplótipos tanto para cpDNA (DNA cloroplastidial) quanto ncDNA (DNA nuclear). Ao contrário da modelagem de nicho, não foi verificada retração populacional neste estudo, e sim, um equilíbrio demográfico histórico para essas populações. Além disto, sugeriu-se provável expansão populacional recente, não detectada a partir dos marcadores utilizados (Braga, 2019). É evidente que, não só as flutuações climáticas podem afetar a distribuição da espécie, como também as ações antrópicas, principalmente o desmatamento provocado pela expansão agrícola (Brook et al., 2008; Grecchi et al., 2014), ocasionando perda de diversidade genética e até mesmo perda de grupos genéticos que existem atualmente (Braga, 2019).

A partir de todas as informações levantadas até aqui, é nítida a importância de *S. adstringens* como um recurso genético e que medidas de conservação e manejo precisam ser tomadas para mitigar os efeitos nocivos que o impacto ambiental e ações antropogênicas possam causar nas populações dessa espécie nativa.

2.3 ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL NO CONTEXTO ESPACIAL

A preocupação com a perda da biodiversidade é um desafio real para muitas áreas do conhecimento. Para que a conservação da variabilidade genética seja de fato efetiva, em meio aos desafios promovidos pelos impactos ambientais e fragmentação de habitats, é necessário avaliar os níveis de diversidade genética intra e interpopulacionais. Para tanto, a avaliação de locos neutros pode indicar possíveis ameaças genéticas às populações naturais (Alsos et al., 2012; Hemingway et al., 2018). Nas últimas décadas, os avanços tecnológicos têm possibilitado que a diversidade genética seja avaliada em várias regiões do genoma (Narum et al., 2013; Garner et al., 2016), sendo que os marcadores moleculares ocupam uma área de grande importância em estudos populacionais e de genética da conservação. Além disto, os marcadores moleculares auxiliam na identificação de processos que influenciam na perda de diversidade genética ocasionada, por exemplo, pela fragmentação de habitats e

microhabitats (Telles et al., 2014), ou ainda, os impactos causados por ações antropogênicas que comprometem a variabilidade genética, bem como o potencial evolutivo das espécies (Aguilar et al., 2008; Hoban et al., 2014).

De acordo com o tipo de estudo a ser realizado, pode-se escolher entre várias técnicas moleculares disponíveis. Neste sentido, os marcadores microssatélites são eficientes e econômicos, além de serem úteis em estudos de ecologia molecular, genética da conservação, genética geográfica e da paisagem (Diniz-Filho et al., 2009), demonstrando alto poder informativo em estudos que avaliam a estrutura genética em populações naturais (Haasl & Payseur, 2011). A era da genômica é responsável pelo grande volume de dados genéticos que vem sendo obtidos (Allendorf, 2017). No entanto, à medida que as técnicas moleculares avançam e se tornam mais complexas, as ferramentas estatísticas precisam acompanhar essa evolução. Neste contexto, a inferência da estrutura genética populacional tem se beneficiado de vários métodos estatísticos sofisticados e robustos. Estes métodos podem se basear em vários níveis, especialmente, a nível populacional e também individual (Latch et al., 2006; Jombart et al., 2008-2010).

Em meio à crise ambiental e recentes perdas de biodiversidade, o manejo e a conservação, para serem eficientes, necessitam de informações genéticas a fim de preservar as espécies nativas como entidades dinâmicas capazes de enfrentar as mudanças climáticas (Frankham, 2010). Deste modo, a avaliação da estrutura genética populacional é crucial (Waples & Gaggiotti, 2006), por fornecer informações relevantes sobre a dinâmica evolutiva das espécies (Sunnucks, 2000). Vale ressaltar que os processos microevolutivos e ecológicos são constantemente influenciados por fatores ambientais, ocorrendo em um contexto geográfico e a variabilidade genética, da mesma forma, pode ser altamente estruturada de acordo com espaço geográfico (Diniz-Filho et al., 2008). Assim, a estrutura genética populacional precisa ser avaliada em seus vários níveis hierárquicos, desde a escala temporal até a escala espacial (Whittaker et al., 2001). Embora não exista ainda um campo denominado como “genética espacial”, muitos conceitos têm sido combinados para compreender a distribuição não-aleatória da variabilidade genética (Guillot et al., 2009). Existem diversas métricas para avaliar a estrutura genética espacial, que podem ser caracterizadas por dois tipos de abordagens: espacialmente implícitas e espacialmente explícitas, sendo que esta última pode ser associada a novas técnicas analíticas que incluem variáveis ambientais (Manel et al., 2003).

2.3.1 Abordagens espacialmente implícitas

O principal objetivo da genética de populações serviu de inspiração para o desenvolvimento de vários modelos para descrever como as frequências alélicas variam ao longo das gerações em um contexto espaço-temporal. Entretanto, é válido ressaltar que as populações são mais complexas e tendem a expandir ou reduzir sua distribuição geográfica ao longo do tempo (Hey & Machado, 2003). As abordagens clássicas, para se medir a diferenciação genética populacional, se resumiam basicamente em quantificar os padrões de variação genética (Excoffier, 1992-2007) utilizando medidas como heterozigosidade, número de alelos e tamanho efetivo populacional (Tallmon et al., 2010; Aravanopoulos, 2011). De forma implícita, o espaço geográfico poderia ser considerado nas análises tradicionais, a partir de populações putativas (Diniz-Filho et al., 2008), pelo particionamento da variação genética em níveis hierárquicos, entre e dentro de populações, como as métricas de F_{ST}, originalmente definidas por Wright (1965) e seus análogos (Excoffier, 1992).

Uma forma de verificar a influência espacial na diferenciação interpopulacional, de uma forma bem simplista, é por meio da correlação entre as matrizes de distância genética (F_{ST} par a par) e a distância geográfica entre os pares de populações, a partir do teste de Mantel (Diniz-Filho et al., 2013), que pode evidenciar possível isolamento por distância ou IBD (Diniz-Filho et al., 2008), pressupondo que os indivíduos estão distribuídos de forma contínua e uniforme no espaço. Entretanto, é importante ressaltar que os indivíduos, na maioria das populações naturais, não estão distribuídos de forma aleatória na paisagem, nem tampouco são agrupados ordenadamente em subpopulações discretas. Assim, a similaridade ou a diferenciação genética entre os indivíduos e populações podem estar ligadas diretamente com as características da paisagem, gerando diferentes padrões espaciais em áreas e tempos diferentes, e esses padrões distanciam-se do modelo implícito de IBD (Milligan et al., 2018).

Além das métricas de diferenciação genética e correlação, são amplamente empregadas técnicas de agrupamento bayesiana (Pritchard et al., 2000), que não incluem o espaço geográfico de maneira explícita, porém podem fornecer pistas de como o ambiente age na formação de grupos genéticos, a partir de possíveis barreiras ao fluxo gênico (Guillot et al., 2009). Entretanto, métodos dessa natureza precisam de cautela em suas interpretações, uma vez que pressupõem correlações entre as frequências alélicas e que as populações estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Pritchard et al., 2000), algo que não reflete a maioria das populações naturais.

2.3.2 Abordagens espacialmente explícitas

Para investigar estruturas espaciais de maneira mais aprofundada, os métodos precisam incluir o espaço geográfico de maneira explícita, em conjunto com os métodos descritos anteriormente, concentrando na variabilidade genética que pode estar estruturada espacialmente (Jombart et al., 2008). Neste sentido, vários métodos estatísticos foram desenvolvidos dentro de uma estrutura bayesiana, que interpretam genótipos multilocos, semelhante ao STRUCTURE (Pritchard et al., 2000), integrando coordenadas geográficas ao modelo (Chen et al., 2007; Corander, Sirén & Arjas, 2008), não só para detectar o número de grupos genéticos ancestrais, como também identificar possíveis barreiras genéticas entre as populações (Coulon et al., 2006).

Com os avanços de técnicas dentro da área de genética da paisagem (Manel et al., 2003), foi possível integrar a genética de populações a estudos de ecologia da paisagem e genética geográfica, para detectar quais fatores ambientais afetam a distribuição da variabilidade genética (Segelbacher et al., 2010; Milligan, 2017), com uma abordagem espacialmente explícita e, incluindo também informações sobre variáveis ambientais (Dyer, 2015). A partir desses estudos, uma outra estatística foi desenvolvida (Jay et al., 2015), que inclui explicitamente informações espaciais e ambientais no modelo bayesiano, para detectar grupos genéticos-ambientais ancestrais e o impacto das mudanças climáticas na estrutura genética espacial. Adicionalmente, essa metodologia realiza modelagens em diversos cenários futuros a partir dessas variáveis ambientais, para detectar mudanças na distribuição da variação genética pelo espaço ou até mesmo a perda de grupos genéticos (Jay et al., 2015). No entanto, é importante salientar que os testes de atribuição individual devem ser interpretados com cautela, quando indivíduos estão geneticamente estruturados. Assim, uma alternativa seria utilizar os correlogramas de Mantel, para avaliar a variação da autocorrelação espacial nas frequências alélicas (Jombart et al., 2008). Os métodos desta natureza foram aprimorados no decorrer do tempo e, geralmente, indicam se o componente espacial exerce ou não alguma influência na distribuição da variabilidade genética e se populações próximas geograficamente são também semelhantes geneticamente ou se o contrário é verdadeiro (Diniz-Filho et al., 2008).

Métricas alternativas em estudos genético-populacionais são os métodos de ordenação espacial ou técnicas multivariadas, que não incorporam as pressuposições de equilíbrio de Hardy-Weinberg nem equilíbrio de ligação entre os locos. Esses métodos resumem dados multivariados a poucos componentes não-correlacionados, em um “espaço

reduzido", sendo que cada componente é escolhido para refletir a maior parte da variabilidade nos dados analisados. Esses métodos podem ser aplicados a vários dados, inclusive a frequências alélicas, a fim resumir a variabilidade genética entre indivíduos e/ou populações (Jombart et al., 2008), que pode ser estruturada espacialmente (Jombart et al., 2009). A análise espacial de componentes principais (sPCA - *Spatial Principal Components Analysis*), por exemplo, trata-se de uma PCA adaptada, que otimiza a variação dos componentes principais e sua autocorrelação espacial (Jombart et al., 2008), sendo um método eficiente para detectar diferentes níveis de estrutura espacial em dados genéticos. A sPCA fornece *scores* que sintetizam a variação genética e a estrutura espacial entre indivíduos e/ou populações, detectando estruturas globais e locais (Jombart et al., 2008).

A análise de redundância ou RDA (*Redundancy analysis*) é um outro método multivariado conveniente para estudos populacionais, que avalia quanto da variação em um conjunto de variáveis (dependentes) pode ser explicada pela variação em outro conjunto de variáveis (explicativas). Este método é uma versão canônica da PCA e uma extensão multivariada da regressão linear simples (Paliy & Shankar, 2016), que modela explicitamente as variáveis-resposta em função das variáveis explicativas (que podem ser variáveis ambientais, por exemplo) e expressa o quanto de variação neste primeiro conjunto é explicada pelo segundo (Legendre & Legendre, 2012), indica o quanto de variação genética é causada pelos fatores ambientais.

Há uma tendência cada vez maior de análises conjuntas entre dados espaciais e genéticos, associados a variáveis ambientais, formando uma nova era de análises em genética de populações. É fundamental o conhecimento dos processos ecológicos e evolutivos para a avaliação da estrutura genética, em um contexto espacial acoplado. A partir dessas inferências, é possível compreender melhor a dinâmica evolutiva das espécies e a influência do espaço geográfico na variação genética observada nessas populações. Informações neste contexto são fundamentais para mitigar os efeitos deletérios de processos estocásticos e antropogênicos, auxiliando no delineamento de estratégias mais adequadas para a conservação e manejo dos recursos genéticos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM E GENOTIPAGEM DE MICROSSATÉLITES

Para a realização deste trabalho, foram conduzidas várias expedições para a coleta de material vegetal da espécie por grande parte do bioma Cerrado (Figura 2), entre os anos de 2013 e 2018 (registro do SisGen - Nº A64E081). A maioria dos locais, em que foi possível coletar uma densidade amostral adequada, correspondeu a beiras de estradas ou áreas particulares (fazendas), ou seja, poucas amostras foram provenientes de áreas de preservação ambiental.

A garantia da representatividade genética de uma espécie pode ser alcançada a partir da amostragem de várias regiões geográficas diferentes, não sendo necessário que sejam feitas coletas exaustivas de amostras de um grande número de indivíduos, em uma mesma população. Partindo deste pressuposto, foram amostrados indivíduos provenientes de 19 subpopulações ou populações locais (ver detalhes na Tabela 3; Figura 2), embora tenham sido feitas prospecções por grande parte da área de ocorrência da espécie pelo Cerrado. A maioria das subpopulações se encontra no estado de Goiás, pois em outras regiões, principalmente ao norte do Cerrado, não foi conveniente a coleta devido à baixa densidade de indivíduos. Entretanto, as áreas amostradas foram condizentes à distribuição de *S. adstringens*, com maior ocorrência no Brasil Central (Figura 2).

Em cada população local, foram coletados tecidos foliares de 32 indivíduos, com exceção de Alto Paraíso de Goiás (ALPGO), cujo número de indivíduos coletados foi 29, resultando em um total de 605 indivíduos. As folhas foram devidamente acondicionadas em sacos contendo sílica gel e, após a sua desidratação, foram armazenadas em freezer -80 ºC para, posteriormente, serem conduzidas às etapas de extração de DNA genômico total.

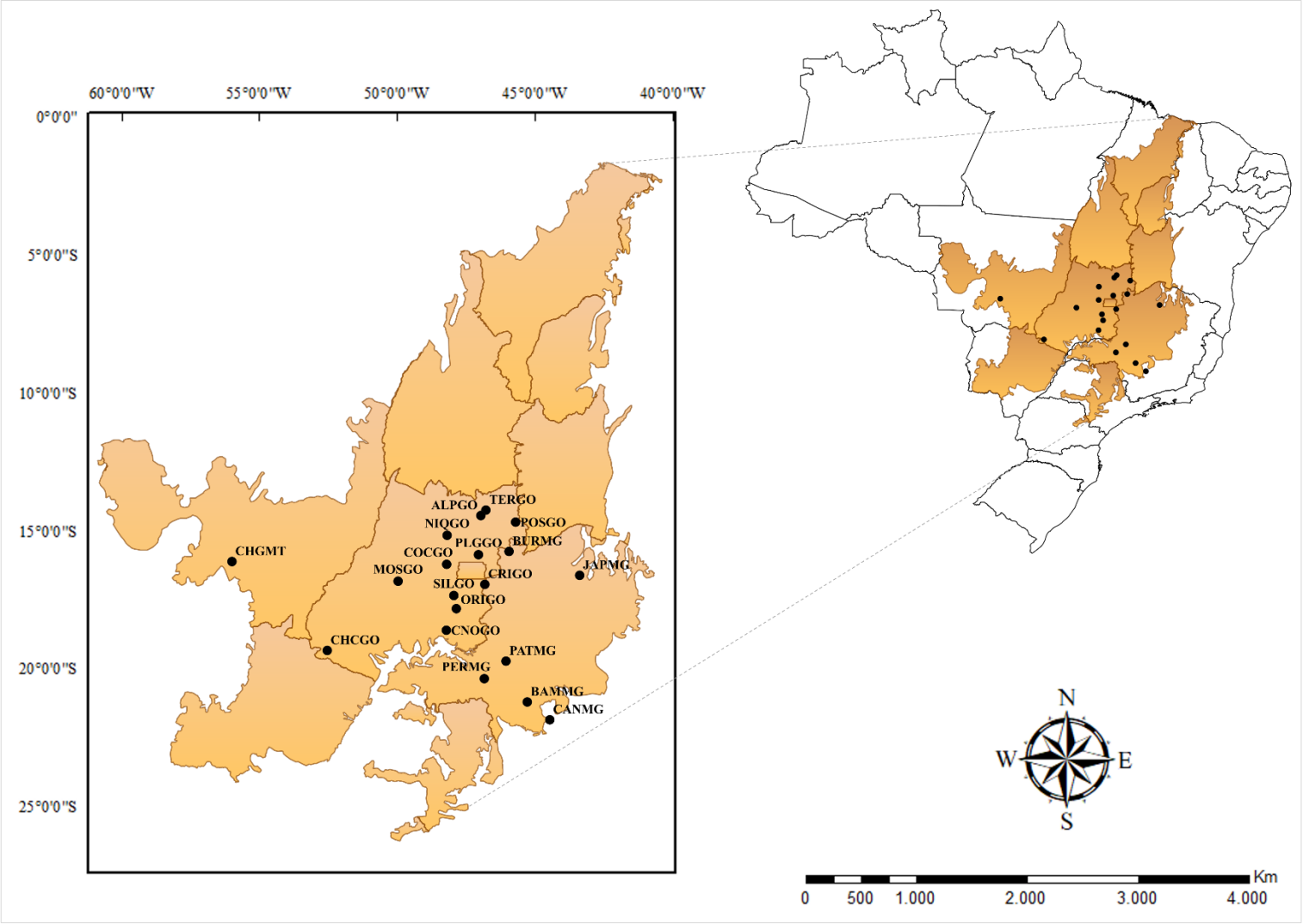


Figura 2. Mapa representativo das 19 localidades onde foram coletadas amostradas de tecido foliar de *Stryphnodendron adstringens*. Em destaque está o Cerrado brasileiro. Os detalhes de coordenadas geográficas e significados das siglas de cada subpopulação estão disponíveis na Tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos locais de coleta de indivíduos de *Stryphnodendron adstringens* no Cerrado brasileiro. Foram coletados 605 indivíduos no total, distribuídos em 19 subpopulações.

Nº Subpop.	Localidade – UF	Código	Ano da Coleta	Coordenadas		Altitude (m)	Nº de indivíduos*
				Latitude	Longitude		
1	Candeias – MG	CANMG	2013	-20.68917	-45.21638	998	32
2	Japonvar – MG	JAPMG	2014	-15.93348	-44.23241	893	32
3	Cristalina – GO	CRIGO	2014	-16.23155	-47.35737	906	32
4	Posse – GO	POSGO	2014	-14.18185	-46.34372	812	32
5	Planaltina de Goiás – GO	PLGGO	2014	-15.25461	-47.56715	1204	32
6	Teresina de Goiás – GO	TERGO	2014	-13.78579	-47.32244	764	32
7	Cocalzinho – GO	COCGO	2014	-15.5706	-48.61411	671	32
8	Buritis – MG	BURMG	2015	-15.14664	-46.55947	954	32
9	Bambuí – MG	BAMMG	2015	-20.10378	-45.95883	765	32
10	Chapada dos Guimarães – MT	CHGMT	2015	-15.4803	-55.68783	644	32
11	Silvânia – GO	SILGO	2015	-16.59766	-48.3782	835	32
12	Patos de Minas – MG	PATMG	2015	-18.75851	-46.66003	874	32
13	Perdizes – MG	PERMG	2015	-19.33652	-47.37488	1061	32
14	Niquelândia – GO	NIQGO	2016	-14.61601	-48.59938	669	32
15	Orizona – GO	ORIGO	2016	-17.03138889	-48.29583333	840	32
16	Chapadão do Céu – GO	CHCGO	2016	-18.4075	-52.54888889	777	32
17	Mossâmedes – GO	MOSGO	2016	-16.12666667	-50.215	580	32
18	Caldas Novas – GO	CNOGO	2016	-17.74166667	-48.625	717	32
19	Alto Paraíso de Goiás – GO	ALPGO	2018	-13.9656	-47.4885	1522	29
Total							605

A coleta de dados moleculares foi realizada no Laboratório de Genética & Biodiversidade (LGBio), localizado no Instituto de Ciências Biológicas (ICB I) da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Goiânia-GO. O DNA genômico dos indivíduos foi extraído a partir de tecido foliar, utilizando o tampão de extração que utiliza o detergente CTAB (Doyle & Doyle, 1987), com adaptações (Ferreria & Grattappallia, 1998). A qualidade do DNA extraído foi verificada por meio de eletroforese horizontal em gel de agarose corado com brometo de etídeo (10mg/mL) e tampão para eletroforese TBE 1X (Tris Borato EDTA). A quantificação do DNA extraído foi realizada com auxílio de marcadores de baixo peso molecular (*Low DNA mass ladder* - Invitrogen®) de concentração conhecida, comparando o padrão de bandas das amostras com o padrão de bandas formadas por esses marcadores no gel de agarose. Posteriormente, o DNA foi diluído, com água ultrapura, para uma concentração final de 2,5 ng/µL.

A amplificação do DNA foi conduzida via reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando um conjunto de nove marcadores microssatélites (Tabela 4) desenvolvidos para *S. adstringens* (Gonçalves et al., *no prelo*). A reação de PCR foi realizada a partir da seguinte mistura de reagentes: 1,5 µL de DNA a 2,5 ng/µL; 0,75 µl de cada par de *primer* a 0,9 µM; 1,0 µL de tampão 10X com cloreto de magnésio (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM $MgCl_2$); 1,3 µL de BSA (*Bovine Serum Albumin*) a 25 mg/mL; 0,9 µL de dNTP's a 2,5 µM; 0,15 µL de *Taq* polimerase a 5 U e 3,65 µL de água ultrapura.

As reações para amplificação das regiões microssatélites foram conduzidas no equipamento *GeneAmp PCR System* 9700 (*Applied Biosystems*), correspondendo aos seguintes passos: i) Desnaturação do DNA a 94ºC por 5 minutos; ii) Temperatura de 94ºC durante 1 minuto; iii) Temperatura específica de anelamento do primer por 1 minuto (Tabela 4); iv) Extensão da molécula pela enzima *Taq* DNA polimerase a 72ºC por 1 minuto; v) 30 ciclos seguindo do segundo ao quarto passos; vi) 45 minutos para finalizar os produtos amplificados. A amplificação do DNA foi confirmada por eletroforese horizontal em gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídeo e submetido à luz ultravioleta pelo sistema de imagem Gel DocTM XR+ (Bio-Rad, EUA).

A obtenção dos genótipos dos indivíduos foi realizada por eletroforese capilar, utilizando reações de aplicação em multiplex (Tabela 4), por meio da detecção de fluorescência presente na extremidade 5' de cada *primer forward*. Os fluoróforos utilizados foram os seguintes: verde (VIC), azul (FAM), vermelho (PET) e amarelo (NED), conforme descrito na tabela 4. A cor de cada fluorescência foi escolhida respeitando-se a amplitude

alélica de cada loco, além da intensidade das bandas geradas, informações essas previamente levantadas por Barateli (2018). Foram estabelecidas duas multiplex: a primeira com um conjunto de cinco locos e a segunda com quatro locos, ressaltando-se que cada multiplex respeita a amplitude alélica de cada loco e sua fluorescência, a fim de permitir a visualização simultânea de vários locos, sem que haja interferência.

Tabela 4. Relação das multiplex de aplicação para genotipagem de indivíduos de *Stryphnodendron adstringens*. Cada sequência *forward* dos iniciadores foi marcada com fluoróforos específicos (VIC – verde; FAM – azul; PET – vermelho; NED – amarelo).

Loco	Sequência *Forward* do *primer*	TA (ºC)	Amplitude Alélica	Multiplex
SadH1	VIC - AGTGCCTCTACTGATTTATGACCC	58	161-171	
SadH5	FAM - GTGGTCTCTCTGCTGCCTTC	54	274-310	
SadH9	PET - AGTGGAAGAAGAGCCCACAG	58	190-260	**Multiplex 1**
SadH11	VIC - TTAAGTCACGCCTCTTCGTC	56	306-340	
SadH18	NED - ATGAGCTTGGATGGTTGATG	58	260-268	
SadH7	VIC - TAAAGGGTCATTATATGTGGCAA	54	148-168	
SadH13	FAM - CTTCCAGGTGCCTTGCTTAC	56	201-255	**Multiplex 2**
SadH14	PET - GAGACATCGTCCGAGGCTAA	58	241-269	
SadH16	NED - TGGAGGAGGGAGTATAGGTGA	58	321-357	

TA: Temperatura de Anelamento.

Para a realização da genotipagem, foi adicionada uma alíquota de 1 µL do produto da multiplex e acrescentados 9 µL do produto entre formamida *Hi-Di* e o marcador *size standard* 600 LIZ (Life Technologies®), nas concentrações de 8,75 µL e 0,25 µL, respectivamente, para um volume final de 10 µL. Essa solução foi desnaturada em termociclador, por cinco minutos à temperatura de 95ºC e, posteriormente, resfriada em *cooler* durante um minuto. Finalmente, as amostras foram injetadas em analisador automático de fragmentos de DNA, modelo ABI-3500 (*Applied Biosystems*®), para a análise dos *amplicons*.

Após a eletroforese capilar, os genótipos foram obtidos no programa *GeneMapper* versão 5.0 (*Applied Biosystems*), por meio da identificação semiautomática dos alelos, utilizando uma janela de detecção (*bin*) de 1,99 pb, para determinar o tamanho dos alelos. A confirmação da existência de cada alelo foi realizada a partir da montagem de uma escada alélica, realizando uma nova eletroforese capilar, utilizando para tanto o menor

número de indivíduos que amostrassem todos os alelos, para cada loco. Além disso, para garantir uma maior confiabilidade nos dados genotípicos, foi realizada uma análise de todas as subpopulações, para cada loco microssatélite, investigando possíveis erros de genotipagem, tais como alelos nulos, *stuttering* e *drop-out*, por meio do programa Micro-checker v. 2. 2. 3 (Van Oosterhout et al., 2004).

Tendo em vista que *S. adstringens* pode se reproduzir por meio de propagação vegetativa em ambientes naturais, foi realizada uma análise de identidade para investigar a presença de possíveis clones nas subpopulações amostradas. Como as coletas foram conduzidas a partir de um padrão aleatório de amostragem, o nível de clonalidade em cada subpopulação foi estimado pelo parâmetro de diversidade clonal, dado por R (riqueza genotípica), em que $R = (G - 1)/(N - 1)$. Nesta equação, G corresponde ao número de genótipos distintos (genetes) e N denota o número total de árvores amostradas (rametes). Evidentemente, os valores de R variam de 0, onde todos os indivíduos têm o mesmo genótipo (alto nível de clonalidade); a 1, onde cada genótipo é único (Walas et al., 2019). A detecção de clones foi conduzida no programa Cervus v.3.0.7 (Kalinowski et al., 2007) e os resultados encontram-se na sessão 4.1 (Variabilidade Genética). Foram considerados apenas os indivíduos com genótipos diferentes para o prosseguimento das demais análises genético-populacionais de *S. adstringens.*

3.2 VARIABILIDADE GENÉTICA

As subpopulações foram submetidas a uma análise para testar a aderência das proporções genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) por meio do programa *Genetic Data Analysis* – GDA v.1.1 (Lewis & Zaykin, 2002). Foi admitido, para esta análise, um nível de significância de 5% e utilizado, para tanto, a abordagem do método exato de Fisher, com base em 100 mil permutações. Além disto, foi aplicado o critério de correção *False Discovery Rate* – FDR, para evitar possíveis erros do tipo I e verificar quais proporções tiveram desvios significativos ao EHW.

As estimativas de diversidade genética foram obtidas tanto a nível populacional quanto para cada loco microssatélite, utilizando o programa *Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity* – SPAGeDi (Hardy & Vekemans, 2002). Foram estimados, assim, os

seguintes parâmetros: número de alelos (*A*) e alelos efetivos (*Ae*), heterozigosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*) sob Equilíbrio de Hardy-Weinberg, coeficiente de endogamia (*f*) e riqueza alélica (*RA*). A significância de *f* foi verificada a partir de 20.000 randomizações. Para os locos microssatélites, estimou-se, ainda, a heterozigosidade máxima ($H_{Máx}$), com base no número de alelos (*A*) amostrados para esse conjunto de marcadores. Essa estimativa é obtida pela equação: $H_{Máx} = (A - 1)/A$. A partir do $H_{Máx}$, foi calculada a razão $He/H_{Máx}$. Além disso, foram estimadas as probabilidades de identidade (*I*) e exclusão de paternidade (*Q*), utilizando o programa Identity v.1.0 (Wagner & Sefc, 1999), para verificar a qualidade do conjunto de microssatélites, com base na discriminação individual.

A nível populacional, foi realizada uma análise para verificar a existência de possíveis alelos privados, a partir do programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002). Além disso, foi estimada a riqueza de alelos privados (R_{AP}), usando HP-Rare (Kalinowski, 2005). Essa estimativa foi corrigida pelo tamanho amostral de cada subpopulação. Adicionalmente, foi calculada a taxa de fecundação cruzada aparente, com base na relação entre o índice de fixação intrapopulacional ($f = F_{IS}$), em que se assume subpopulações em equilíbrio de Wright, por meio da equação: $\hat{t}_a = \frac{1-\hat{f}}{1+\hat{f}}$.

3.3 ESTRUTURA E DISTÂNCIA GENÉTICA POPULACIONAL

A fim de compreender como a variação genética está estruturada e verificar o grau de divergência entre as subpopulações de barbatimão, foi conduzida uma análise de variância por meio da matriz de frequências alélicas, para os seguintes níveis: indivíduos, populações e população global (onde as populações são agrupadas considerando-se uma só população), com o auxílio do programa Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). Para cada nível, o programa produz os diferentes componentes de variação (Tabela 5), dos quais as estatísticas *F* são estimadas. Uma das vantagens de se utilizarem as estimativas de Weir & Cockerham (1984), neste caso, é que as frequências alélicas são ponderadas de acordo com o tamanho amostral, ao passo que a abordagem de Nei (1973) considera que todas as amostras têm pesos iguais, independentemente do tamanho (*N*) de cada população (Goudet, 2003).

Tabela 5. Modelo matemático exemplificando a decomposição dos componentes de variação para a análise de variância molecular com dados genotípicos.

Fonte de variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados (SQ)	Quadrados Médios Esperados E(QM)
Entre populações	P - 1	SQ(AP)	$n\sigma_a^2 + 2\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Entre indivíduos/dentro de populações	$N - P$	SQ(AI/WP)	$2\sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Dentro de indivíduos	N	SQ(WI)	σ_c^2
Total	$2N - 1$	SQ(T)	σ_T^2

A diferenciação genética entre os pares de subpopulações (F_{ST} par a par) também foi estimada pelo programa Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). Utilizando a matriz de distância genética obtida, foi realizada uma análise para verificar graficamente a divergência genética entre as subpopulações de barbatimão. Para tanto, foi empregado o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) de Sneath & Sokal (1973), a partir da distância euclidiana. Essa metodologia, por se tratar de uma análise aglomerativa e hierárquica, agrupa as subpopulações com menor grau de dissimilaridade a partir das médias aritméticas não-ponderadas (Cruz et al., 2011). Assim, foi construído um dendrograma que representasse a matriz de distância genética, com o pacote *pvclust* (Suzuki & Shimodaira, 2006), em que a consistência dos nós foi obtida por meio de 10.000 reamostragens *bootstrap*. Além disto, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética, para verificar se o dendrograma gerado realmente representa os grupos genéticos da matriz original. Esta etapa foi realizada utilizando o pacote *ade4* (Dray et al., 2013), na plataforma R v.3.6.1 (R Core Team, 2020).

Adicionalmente, foi conduzida outra análise empregando a matriz de distância genética interpopulacional para gerar redes de conexões genéticas (*networks*). Nesta abordagem, não há uma premissa adotada, justamente para agrupar as populações (e/ou indivíduos) com maior similaridade. Esta análise foi feita utilizando o programa EDENetworks v.2.18 (Kivelä et al., 2014), onde as redes são derivadas da matriz de F_{ST} par a par. Cada nó da rede corresponde a uma subpopulação e optou-se por utilizar um limiar (*threshold* = 0,15) para derivar a rede. Assim, as distâncias genéticas acima deste valor foram removidas da análise. Os ramos da rede indicam prováveis vias de fluxo gênico entre as subpopulações, o que permite fazer algumas inferências sobre as relações entre elas. Ao final

da análise, foram inseridas as coordenadas geográficas de cada subpopulação para que cada nó correspondesse devidamente à localidade em um mapa.

Buscando investigar a existência de interrupções ao fluxo gênico (barreiras genéticas) entre as subpopulações foi utilizado o programa Barrier v.2.2 (Manni et al., 2004a), por meio de uma abordagem computacional geométrica, implementada pelo algoritmo de Monmonier (1973). Com base nos resultados obtidos neste programa, é possível identificar descontinuidades genéticas, a partir de grandes alterações nas distâncias genéticas (Manni et al., 2004b). Para tanto, foram utilizadas as coordenadas geográficas das 19 subpopulações e a matriz de F_{ST} par a par.

Para testar se as distâncias genéticas estão correlacionadas com o espaço geográfico, a matriz de distância genética (F_{ST} par a par linearizado: $F_{ST}/(1- F_{ST})$) foi analisada em conjunto com a matriz de distância geográfica (em escala logarítmica), obtida por meio das coordenadas geográficas de cada subpopulação. A correlação entre essas duas matrizes foi verificada por meio do teste de Mantel simples (Mantel, 1967), e a significância estatística do teste foi verificada a partir de 100 mil permutações randomizadas, utilizando o pacote *ape* (Paradis & Schliep, 2018) da plataforma R v.3.6.1 (R Core Team, 2020). Além disso, foi construído um correlograma contendo seis classes de distância, em que é possível constatar como a variabilidade genética se distribui ao longo do espaço geográfico (Oden & Sokal, 1986).

A fim de obter inferências mais robustas sobre a estrutura populacional e os padrões genético-espaciais em *S. adstringens*, foi realizada uma técnica multivariada denominada Análise Espacial de Componentes Principais (sPCA, *Spatial Principal Components Analysis*), como um complemento às análises bayesianas. A sPCA é uma adaptação da análise de componentes principais (PCA) que otimiza a variação desses componentes e sua autocorrelação espacial estimada pelo coeficiente *I* de Moran (Jombart et al., 2008). Para a execução da sPCA, foram utilizados os pacotes *adegenet* (Jombart, 2008), *spdep* (Bivand et al., 2019) e *splancs* (Bivand et al., 2017), implementados na plataforma R v.3.6.1 (R Core Team, 2020).

A análise consistiu em uma PCA centralizada e escalonada, usando o teste *I* de Moran para detectar a estrutura espacial e agrupar os genótipos individuais, e os dados foram posteriormente analisados por sPCA, em que a rede de conexão populacional foi definida usando a triangulação tipo 1 (Delaunay) e a vizinhança foi baseada em distâncias geográficas aos pares (tipo = 5). Análises de regressão múltipla foram aplicadas por meio de testes de

Monte Carlo, para avaliar a significância das estruturas globais e locais (com 9.999 permutações). As pontuações globais podem indicar grupos geneticamente distintos, enquanto as pontuações locais podem refletir diferenciação entre indivíduos próximos geograficamente.

3.4 HISTÓRIA DEMOGRÁFICA E PROCESSOS MICROEVOLUTIVOS

A fim de avaliar se as subpopulações de *S. adstringens* passaram por eventos de gargalo genético (*bottleneck*), foi realizada uma análise utilizando o método da razão-M (Garza & Williamson, 2001), implementado no programa INEst v.2.2 (Chybicki & Burczyk, 2009). Este coeficiente é capaz de informar se as subpopulações passaram por redução recente no seu tamanho efetivo (Ne) e é calculado com base na proporção média do número de alelos. Sua estimativa é dada por $R_M = \frac{k}{R}$ para locos polimórficos (Garza & Williamson, 2001) ou $R_M = \frac{k}{R+1}$ para locos monomórficos (Excoffier et al., 2005), em que *k* corresponde ao número de alelos e *R* é a amplitude alélica do loco.

Este índice é mais sensível do que a heterozigosidade, uma vez que eventos de *bottleneck* podem reduzir mais rapidamente o número de alelos do que a diversidade genética. Se o valor de R_M for muito pequeno ($R_M < 0{,}68$), é indicativo de que as populações experimentaram um gargalo recente, ao contrário das populações em equilíbrio mutação-deriva, que apresentam esse índice próximo de 1 (Garza & Williamson, 2001). A análise foi conduzida sob o modelo mutacional bifásico TPM (*Two-phase Model*), com a proporção de mutações de múltiplos estágios (p_g) definida em 0,22 e o tamanho médio das mutações de vários estágios (δ_g) como 3,1, de acordo com as recomendações de Peery et al. (2012). A redução na razão R_M foi verificada comparando-se a "razão M" observada média ($\bar{R}_M$) com a "razão M" simulada gerada sob equilíbrio de mutação-deriva (R_{MReq}). Para avaliar a significância nos valores de R_M, foi aplicado o teste estatístico não-paramétrico de Wilcoxon (1945), com base em simulações coalescentes consistindo em 10^6 iterações.

Buscando compreender as possíveis conexões genéticas entre as subpopulações de *S. adstringens*, foi conduzida uma análise de fluxo gênico histórico (aproximadamente 4Ne gerações no passado, Beerli & Felsenstein, 2001), usando inferência bayesiana,

implementada no programa MIGRATE-n v.3.7.2 (Beerli, 2008). O parâmetro mutacional θ é produto entre o tamanho efetivo populacional (*Ne*), em um modelo populacional de Wright-Fisher (Beerli & Felsenstein, 2001) e a taxa de mutação (μ), sendo indicativo da capacidade que uma população tem em manter sua variabilidade genética. Neste caso, em organismos com taxa mutacionais semelhantes, o parâmetro θ se comporta como uma medida do tamanho efetivo relativo da população (Kuhner, 2009). Este parâmetro ($\theta = 4Ne\mu$, para dados diploides) foi calculado para as subpopulações, enquanto as taxas de migração em escala de mutação, dadas por $M = m/\mu$, foram estimadas para os pares de subpopulações, a partir de eventos de coalescência. Assim, o tamanho efetivo populacional foi mensurado a partir da equação $Ne = \theta/4\mu$, considerando a taxa de mutação média de μ= 2,0 x 10^{-4}, reportada para soja (Diwan & Cregan, 1997).

A análise de migração foi executada com base no modelo de mutação de movimento browniano para microssatélites, definida a partir do agrupamento UPGMA e com taxas de mutação constantes para todos os locos. Os parâmetros iniciais (tanto θ quanto M) foram baseados nas estimativas de F_{ST}. Foram determinadas amostragens por fatias e distribuição prévia uniforme para a estimação de M (intervalo: 0 – 1000, média: 500 e delta: 100). A estratégia de análise adotada consistiu em duas réplicas de corrida, com uma cadeia longa e 2.000.000 de iterações para cada réplica, com descarte de 50.000 e registro de 20.000 genealogias, com incremento amostral de 50. As cadeias de Markov foram executadas utilizando um esquema de aquecimento estático a quatro temperaturas (1,00; 1,50; 3,00 e 1.000.000,00) para pesquisar com eficiência o espaço genealógico.

Adicionalmente, foram estimadas as taxas de migração recente bidirecional (nas últimas gerações; m_c, fração de indivíduos imigrantes) usando uma abordagem bayesiana no programa BayesAss v.3.03 (Wilson & Rannala, 2003). Este método admite desvios do EHW, presume equilíbrio de ligação entre os locos e taxas de migração constantes por duas gerações antes da amostragem. Para maximizar os valores de verossimilhança do log, os valores Δ foram ajustados para otimizar as alterações propostas entre os terminais das cadeias (40 - 60% do total de iterações) para garantir a busca de espaço suficiente nos parâmetros (Wilson & Rannala, 2003). Assim, para obter taxas de aceitação satisfatórias, foram definidos os seguintes parâmetros de mistura: Δ_M = 0,1 (para migração); Δ_A = 0,3 (para frequências alélicas) e, por fim, Δ_F = 0,5 (para os coeficientes de endogamia).

Foram conduzidas dez corridas MCMC independentes, com números de sementes diferentes, com 1 x 10^7 iterações registradas após queima de 10^6 iterações. Para

verificar a convergência das corridas e estimar os tamanhos efetivos de amostra (ESS), foi utilizado o programa Tracer v.1.7.1 (Rambaut et al., 2018). A medida de desvio bayesiano foi usada para determinar a corrida que exibia o melhor ajuste do modelo (Spiegelhalter et al., 2002). Após este ponto de checagem, a semente com maior ESS foi escolhida para ser executada novamente no BayesAss, porém com um número maior de iterações (3×10^7), seguindo os mesmos parâmetros descritos acima.

Por fim, foi realizado um teste de Mantel com 100.000 permutações para testar a correlação entre os valores históricos e recentes das taxas de migração. Para tanto, foram utilizados os valores de m_c gerados diretamente pelo BayesAss e os valores de m estimados a partir da relação $M = m/\mu$ gerados pelo Migrate-n, multiplicando todos os valores de M por uma taxa de mutação estimada de 5×10^{-4} para microssatélites.

3.5 GRUPOS GENÉTICOS POR INFERÊNCIA BAYESIANA

3.5.1 Grupos genéticos ancestrais

Para a análise de subestruturação populacional e avaliar se há mistura entre os indivíduos e as subpopulações de *S. adstringens*, foi utilizado o programa STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard et al., 2000), que utiliza algoritmo de agrupamento bayesiano, no modelo com mistura e frequências alélicas correlacionadas (*admixture*). Os possíveis grupos genéticos (*k*) são obtidos a partir de uma abordagem bayesiana, tendo como única informação os genótipos dos indivíduos. Assim, cada indivíduo é alocado em um determinado grupo a partir de um teste de atribuição que tende a maximizar o EHW e, as frequências alélicas são correlacionadas, a fim de agrupar os indivíduos semelhantes geneticamente. A partir da *posteriori* associada ao *k* gerado pelo programa, obtêm-se o número de grupos mais apropriado para a análise. O melhor valor de *k* foi estimado pelos métodos de Evanno et al. (2005) e Puechmaille (2016).

As simulações foram conduzidas com os valores de *k* variando de 1 (para nenhuma estruturação genética) até 20, com *burn-in* de 20.000 (corridas descartadas) e 30 réplicas para cada *k*, sendo que cada repetição foi realizada com um milhão de permutações pelo método de Monte Carlo via cadeias de Markov (MCMC). Os arquivos *clumpp*, com os valores de coancestria (*indifile* e *popfile*) para cada grupo, foram obtidos meio do programa

Structure Selector (Li & Liu, 2018). A partir deste programa, também foi obtido o gráfico populacional com o valor de *k* que melhor explicaria os dados.

Além disto, os genótipos multilocos para barbatimão foram analisados usando o método espacialmente explícito de agrupamento bayesiano implementado no programa TESS v.2.3.1 (Chen et al., 2007), para determinar o número mais provável de *clusters* (K). O TESS implementa algoritmos de estimativa de ancestralidade para análises genético-geográficas, executando atribuição geográfica individual, além de ser adequado para buscar descontinuidades genéticas em populações contínuas e estimar proporções de mistura individuais que variam espacialmente (Chen et al., 2007). Para esta análise, além das informações dos genótipos, foram inseridas as coordenadas geográficas de cada indivíduo que, neste caso, foram obtidas aleatoriamente a partir de um limite pré-determinado para cada subpopulação. Neste programa, foram testados ambos os modelos, admitindo ou não mistura. Na análise que pressupõe mistura, foi testado o modelo CAR (Durand et al., 2009), com superfície de tendência linear. Este modelo assume que os genomas individuais surgem da mistura de, no máximo, $K_{máx}$ (potencialmente) populações parentais não observadas. Pressupõe-se, ainda, que a fração do genoma de cada indivíduo seja espacialmente autocorrelacionada, de modo que os indivíduos vizinhos sejam mais semelhantes que os distantes (Durand et al., 2009).

Foram realizadas dez repetições para cada potencial valor de *k* (variação de 2 a 19), com 50.000 varreduras registradas após uma queima de 10.000 varreduras. A definição do melhor valor de *k* ($K_{máx}$) foi obtida a partir do menor valor de DIC (*Deviance Information Criterion*), ou critério de informação do desvio (Spiegelhalter et al., 2002). Utilizando este critério, descartamos as execuções que visitam regiões menos interessantes da distribuição posterior.

3.5.2 Estrutura espacial e fatores climáticos

A abordagem multivariada denominada Análise de Redundância (RDA) foi utilizada para avaliar a contribuição relativa dos fatores climáticos, ligados à precipitação e temperatura, na determinação da diversidade genética de populações de *S. adstringens*. No processo de triagem inicial, foram utilizadas as 19 variáveis bioclimáticas (Anexo I) extraídas do banco de dados ecoClimate (Lima-Ribeiro et al., 2015; http://ecoclimate.org/),

correspondentes às coordenadas geográficas de cada subpopulação. Para a extração das variáveis climáticas, foi selecionada a base de dados moderna, que corresponde aos anos entre 1950 até 1999, sob o modelo CCSM (*Community Climate System Model*).

Inicialmente, foram calculadas as correlações entre altitude, variáveis bioclimáticas, latitude e longitude, para evitar redundância nos resultados devido à alta correlação entre algumas variáveis. A partir dessa triagem, prosseguiu-se à análise RDA utilizando, como variáveis preditoras, a altitude e três variáveis bioclimáticas com baixa correlação: BIO2 (intervalo médio diurno), BIO4 (sazonalidade de temperatura) e BIO16 (precipitação do quadrimestre mais úmido). A RDA é uma extensão da regressão múltipla para o caso multivariado e, neste estudo, foi utilizada a matriz de dados genotípicos com a matriz de variáveis bioclimáticas (variáveis explicativas), utilizando o pacote *vegan* (Oksanen et al., 2019), na Plataforma R v.3.6.1 (R Core Team 2020). Além disto, foi estimado o coeficiente de determinação múltipla ajustado (R^2_{aju}) e aplicada uma ANOVA com 10.000 permutações, para testar a significância do teste.

A partir das variáveis bioclimáticas selecionadas na RDA, foi conduzida outra abordagem espacialmente explícita, para avaliar quais os efeitos dos fatores climáticos na distribuição da variabilidade genética de *S. adstringens*, utilizando um algoritmo bayesiano implementado no programa PoPS v.1.2 (Jay et al., 2015). No PoPS, os modelos de distribuição de ancestrais estimam simultaneamente a mistura genética variável espacialmente dos *k* grupos ancestrais, com base em marcadores genéticos e os efeitos de covariáveis ambientais na estrutura genética populacional. Nesta etapa, foram utilizados os dados genotípicos individuais, a altitude, as coordenadas geográficas, além das três variáveis bioclimáticas indicadas na análise anterior.

Além da simulação para o presente, o programa PoPS permite realizar modelagens preditivas para detectar como os grupos genéticos estarão distribuídos no futuro. Para isso, foram utilizadas duas previsões climáticas futuras (entre os anos de 2080 e 2100), relacionadas à emissão de gases de efeito estufa: o primeiro cenário, menos pessimista, corresponde ao aumento de temperatura de até 1,8 °C até 2100 (cenário RCP 4.5); e o segundo cenário, RCP 8.5, corresponde às previsões climáticas mais pessimistas, com o aumento do valor de radiação quatro vezes maior e aumento de temperatura de até 3,7 °C até 2100. As análises preditivas foram realizadas sem a informação de altitude, por se tratar de uma variável constante. A análise no PoPS decorreu de forma semelhante ao descrito para as corridas no TESS, com a exceção de que aqui foram inseridas as variáveis bioclimáticas

correspondentes à cada coordenada geográfica populacional, onde todos os indivíduos da mesma subpopulação tinham as mesmas coordenadas. Para a análise do presente, foi admitido um modelo de mistura (*admixture*), com 20.000 varreduras registradas após queima de 2.000 varreduras. Foram realizadas três réplicas para cada valor de *k* (variação de 2 a 19). A partir do menor valor de DIC, foi selecionado o melhor valor de *k* para, finalmente, serem conduzidas as análises de simulações dos cenários futuros. Os valores de coancestria, gerados para cada simulação, foram comparados para avaliar se houve alteração na distribuição da variabilidade genética no decorrer dos anos. Os mapas dos grupos genético-ambientais foram produzidos na plataforma R v.3.6.1 (R Core Team, 2020). Além disso, foi avaliada a extensão de *turnover* intraespecífico, por meio da estimativa de correlação entre os coeficientes de ancestralidades estimados, usando dados genéticos e as variáveis bioclimáticas atuais, além do previsto para os dois cenários descritos. Essa medida é relevante, pois quanto mais próxima de 1 for essa correlação, menores serão as mudanças esperadas na estrutura populacional.

3.6 CONSERVAÇÃO DE ÁREAS PRIORITÁRIAS

Foi realizada uma análise em que a "diversidade alélica" foi utilizada para buscar o menor número de subpopulações que contemple todos os alelos, por meio de uma função que atende aos objetivos do SCP (*Spatial Conservation Planning*), ou Plano de Conservação Espacial (Diniz-Filho et al., 2016). Assim, esse modelo busca sugerir uma rede de complementaridade genética, oriunda do *ranking* de prioridade. Esta análise foi conduzida na plataforma R v.3.6.1, usando a matriz de frequências alélicas e um modelo nulo com 524.287 simulações ($2^{n^{o}pops}$ -1). Retirando as frequências de alelos raros (fa $\leq$ 0,05), foram consideradas as frequências de 100 alelos. Adicionalmente, foi calculada a "insubstituibilidade" (*irrepleceability* – IRR) de cada subpopulação, para verificar seu nível de importância para a rede de conservação. O gráfico de insubstituibilidade foi obtido pelo pacote *adegenet* por meio da função *s.value* (Jombart, 2008) e visualizado pela rede de conexão de Gabriel (Gabriel & Sokal, 1969).

4 RESULTADOS

4.1 VARIABILIDADE GENÉTICA

A avaliação dos locos apontou a presença prováveis alelos nulos para sete das 19 subpopulações avaliadas, quanto ao excesso de homozigotos, sendo SadH7 o loco com maior ocorrência de alelos nulos, em seis subpopulações (Apêndice A). Entretanto, não foram constatados erros do tipo *stuttering* e *dropout* para nenhum loco, condizendo que esse excesso de homozigotos não se deve a erros de genotipagem. Erros deste tipo podem ser ocasionadas por falhas durante a amplificação da região microssatélite, devido a mutações que podem ter ocorrido, ou na região de interesse, ou nas regiões flanqueadoras (Varshney et al., 2005).

Em relação à análise de detecção de genótipos idênticos, foram encontrados clones em dez subpopulações (Figura 3). Dos 605 indivíduos genotipados, 554 genótipos únicos foram identificados (Tabela 6). Na maioria das subpopulações, foram detectados genótipos distintos ($R = 1$) ou apenas alguns indivíduos eram de origem vegetativa (Tabela 6). O nível mais alto de clonalidade (R = 0,323) foi observado em TERGO, onde 11 genótipos únicos foram detectados entre 32 árvores amostradas (Tabela 6). Em relação ao número de grupos de genótipos idênticos, CHGMT superou TERGO, por apresentar cinco grupos, contendo dois indivíduos compartilhando o mesmo genótipo em cada grupo. Das subpopulações com presença de clones, a subpopulação PERMG apresentou a menor frequência (3,13%), seguida de CRIGO, ALPGO e CANMG, todas com 6,25% de clones, enquanto que TERGO deteve a maior frequência, com 65,63% (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de identidade genética para detecção de clones em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Foram encontrados clones em dez subpopulações.

Subpop.	Clones*	Nº de indivíduos	Nº de genótipos	*R* = (G – 1)/(N – 1)	% Clones
CANMG	(09, 12, 17)	32	30	0,94	6,25
JAPMG	-	32	32	1,00	0,00
CRIGO	(2, 15, 32)	32	30	0,94	6,25
POSGO	-	32	32	1,00	0,00
PLGGO	(8, 9, 15, 17); (25, 31)	32	28	0,87	12,50
TERGO	(2, 4, 10, 19, 23, 27, 28, 31); (3, 8, 12, 13, 14, 15, 22, 24, 32); (6, 21, 25, 26, 29, 30); (11, 16)	32	11	0,32	65,63
COCGO	(3, 26, 29); (11, 22, 25)	32	28	0,87	12,50
BURMG	-	32	32	1,00	0,00
BAMMG	-	32	32	1,00	0,00
CHGMT	(2, 7); (4, 15); (12, 25); (19, 29); (22, 24)	32	27	0,84	15,63
SILGO	-	32	32	1,00	0,00
PATMG	(1, 26); (6, 7, 8, 18); (10, 25, 32)	32	26	0,81	18,75
PERMG	(16, 25)	32	31	0,97	3,13
NIQGO	-	32	32	1,00	0,00
ORIGO	-	32	32	1,00	0,00
CHCGO	-	32	32	1,00	0,00
MOSGO	(9, 18); (16, 30, 31); (26, 29)	32	28	0,87	12,50
CNOGO	-	32	32	1,00	0,00
ALPGO	(23, 24); (25, 26)	29	27	0,93	6,90
Total		605	554	-	-

R: Riqueza genotípica, *****: cada grupo de genótipos é separado por ponto-vírgula.

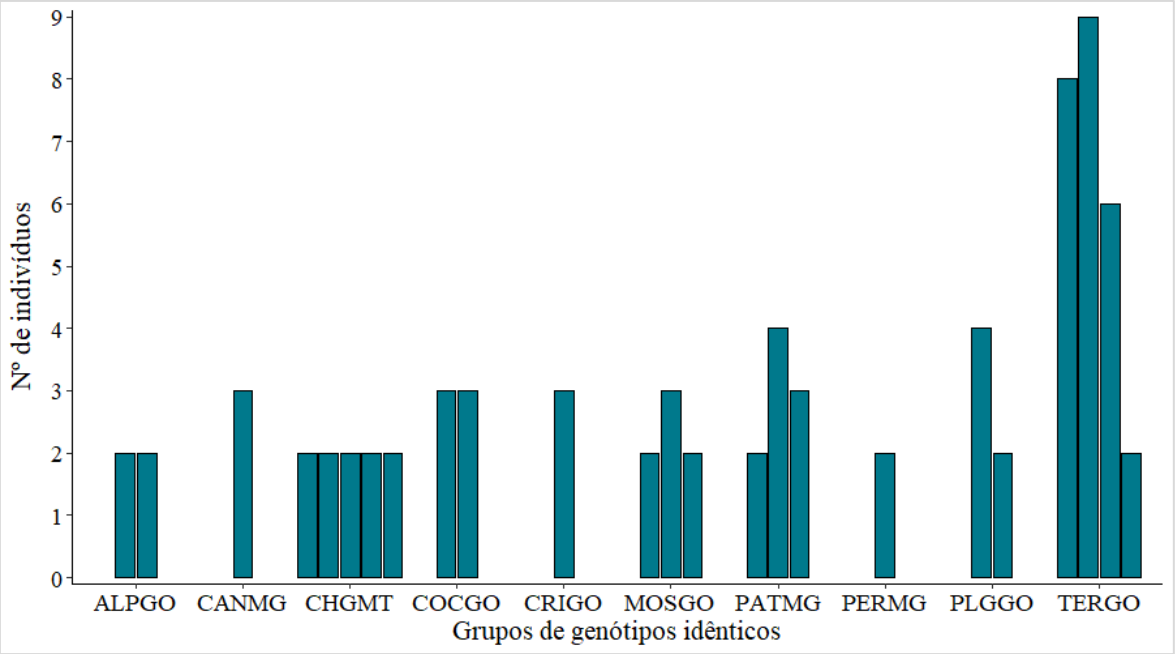


Figura 3. Número de grupos de genótipos idênticos, com os respectivos números de indivíduos compartilhando o mesmo genótipo. A ocorrência de clones foi verificada em dez subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*.

Com base nos nove locos microssatélites utilizados, foram amostrados 138 alelos (Tabela 7, Figura 4), com média igual a 15,33 alelos por loco, variando de três (SadH1) a 34 (SadH9). No Apêndice B, encontram-se os gráficos para as frequências alélicas de cada loco. Embora SadH9 tenha apresentado o maior número de alelos, neste conjunto de marcadores, SadH13 foi o loco que apresentou o maior número efetivo de alelos (*Ae* = 10,40) e SadH1, o menor valor (*Ae* = 1,17). As análises descritas detectaram uma heterozigosidade esperada média de 0,708, variando de 0,145 (SadH1) a 0,904 (SadH13). A heterozigosidade esperada média encontrada correspondeu a mais de 77% da heterozigosidade máxima ponderada pelo número de alelos amostrados (Tabela 7). Isto indica que há uma moderada diversidade genética nas subpopulações estudadas. Dentre os locos que apresentaram uma deficiência de heterozigotos (*Ho* < *He*), os marcadores SadH7, SadH9, SadH13 e SadH18 apresentaram desvios significativos às proporções esperadas sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,05$).

A probabilidade de exclusão de paternidade (*Q*) variou de 0,073 (SadH1) a 0,806 (SadH13), com um valor combinado *QC* = 0,9998. Ao passo que, a probabilidade de identidade (*PI*), variou de 0,017 (SadH13) a 0,737 (SadH1), com probabilidade combinada de $6,11 \times 10^{-11}$. Com base nessas estimativas, pode-se afirmar que este conjunto de locos é

bastante informativo e adequado para a discriminação dos indivíduos, análises populacionais e de paternidade.

Tabela 7. Estimativas descritivas da diversidade genética em *Stryphnodendron adstringens* para nove marcadores microssatélites, com base nos genótipos de 554 indivíduos.

Locus	***A***	***Ae***	***RA***	$\bar{H}o$	$\bar{H}e$	***P (EHW)***	$H_{MÁX}$	$He/H_{MÁX}$	***PI***	***Q***
SadH1	3	1,17	2,150	0,090	0,145	0,341	0,667	0,217	0,737	0,073
SadH5	19	8,83	9,520	0,799	0,887	0,223	0,947	0,936	0,023	0,775
SadH7	10	3,84	6,130	0,482	0,739	0,000	0,900	0,822	0,089	0,557
SadH9	34	5,21	8,910	0,590	0,808	0,027	0,971	0,832	0,054	0,654
SadH11	16	7,33	8,880	0,714	0,864	0,573	0,938	0,921	0,031	0,736
SadH13	24	10,40	10,250	0,701	0,904	0,004	0,958	0,943	0,017	0,806
SadH14	15	6,67	8,150	0,782	0,850	0,942	0,933	0,911	0,038	0,707
SadH16	13	3,85	5,260	0,650	0,741	0,445	0,923	0,802	0,102	0,527
SadH18	4	1,76	2,760	0,363	0,433	0,020	0,750	0,577	0,364	0,222
Total	138	5,4511	6,890	0,575	0,708	0,000	-	0,773	*IC* = $6{,}11\text{x}10^{-11}$	*QC* = 0,9998

A: Número de alelos, ***Ae***: Número efetivo de alelos, ***RA****:* riqueza alélica rarefeita, ***Ho***: Heterozigosidade média observada, ***He****:* Heterozigosidade média esperada sob EHW, $H_{MÁX}$: heterozigosidade máxima possível, ***PI***: Probabilidade de identidade genética; ***Q***: Probabilidade de exclusão de paternidade.

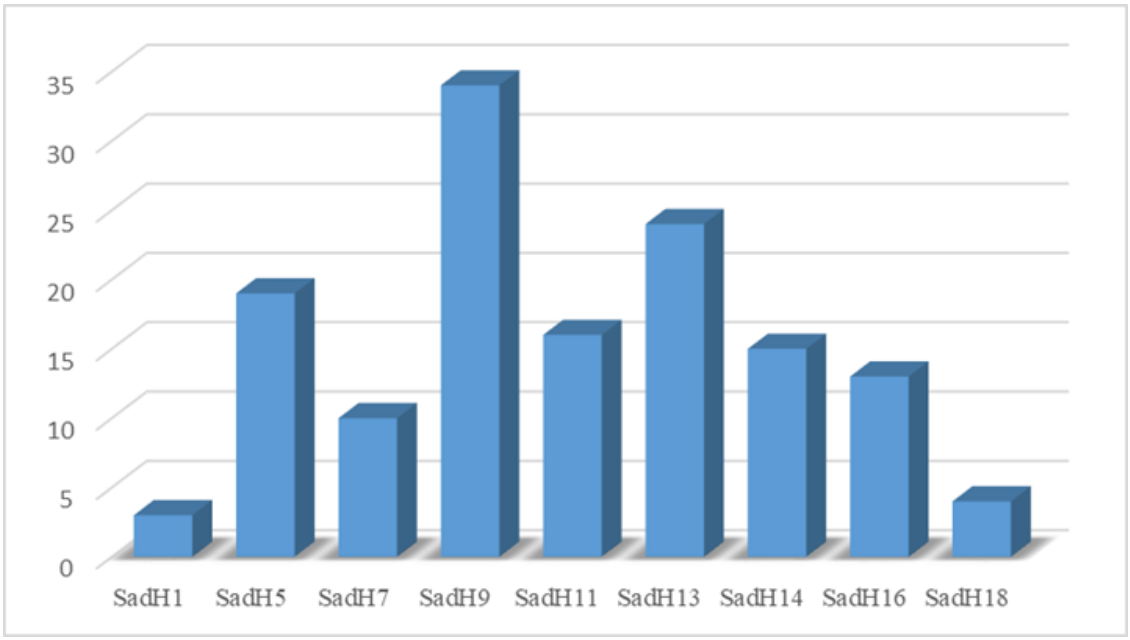


Figura 4. Relação do número de alelos amostrados para cada loco microssatélite utilizado no estudo da diversidade genética de *Stryphnodendron adstringens*.

Dos locos analisados, quatro apresentaram desvios significativos às proporções esperadas por EHW em algumas subpopulações (Tabela 8), sendo SadH7 o que mais apresentou desvios significativos, ocorrendo em cinco subpopulações. SadH5, SadH13 e SadH14 apresentaram desvios significativos em uma subpopulação e o restante não teve desvios significativos ao EHW.

Tabela 8. Avaliação dos nove locos microssatélites de *Stryphnodendron adstringens* com base nas proporções esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. O teste de significância dos desvios foi conduzido por meio de 10.000 permutações. Os valores destacados apresentaram desvios significativos após a aplicação do fator de correção FDR ($p < 0,05$).

Pop/Loco	SadH1	SadH5	SadH7	SadH9	SadH11	SadH13	SadH14	SadH16	SadH18
CANMG	1,000	0,303	0,027	0,981	0,799	0,453	0,124	0,135	0,023
JAPMG	1,000	0,166	0,731	0,228	0,805	0,642	0,593	0,514	0,616
CRIGO	1,000	0,714	0,007	0,003	0,659	0,837	0,591	0,768	0,224
POSGO	1,000	0,633	0,011	0,964	0,461	0,137	0,447	0,638	0,558
PLGGO	0,074	0,219	0,947	0,119	0,200	0,053	0,015	0,128	1,000
TERGO	1,000	0,913	**0,001**	0,801	0,135	0,843	0,928	1,000	1,000
COCGO	1,000	0,542	0,008	0,112	0,328	0,565	0,539	0,115	0,643
BURMG	1,000	0,240	0,468	0,223	0,837	0,919	0,313	0,372	1,000
BAMMG	1,000	0,310	**0,000**	0,156	0,965	0,060	0,587	0,142	0,717
CHGMT	1,000	**0,001**	0,589	1,000	0,100	0,026	0,356	0,069	0,197
SILGO	1,000	0,302	0,665	0,292	0,662	0,575	0,145	0,722	0,182
PATMG	1,000	0,340	0,352	0,138	0,183	0,618	0,358	0,916	0,136
PERMG	1,000	0,612	0,126	0,126	0,625	0,073	0,993	0,061	0,782
NIQGO	1,000	0,826	**0,000**	0,045	0,438	0,023	0,829	0,165	0,173
ORIGO	1,000	0,373	0,009	0,126	0,892	0,382	0,331	0,524	0,796
CHCGO	1,000	0,987	0,096	0,821	0,925	0,642	0,874	0,032	0,686
MOSGO	1,000	0,338	**0,000**	0,861	0,118	0,078	**0,001**	0,784	0,110
CNOGO	1,000	0,073	0,223	0,191	0,213	0,114	0,186	0,432	0,888
ALPGO	1,000	0,360	**0,001**	0,027	0,331	**0,000**	0,869	0,647	0,284

Todas as combinações possíveis entre os pares de locos apresentaram equilíbrio de ligação ($p > 0,0014$), considerando as subpopulações em conjunto. Por outro lado, quando as subpopulações foram avaliadas separadamente, MOSGO foi a única subpopulação a apresentar pares de marcadores em desequilíbrio de ligação, com um total de seis pares de locos em desequilíbrio (Apêndice C).

A descrição da variabilidade genética para as 19 subpopulações de *S. adstringens*, com base nos nove marcadores microssatélites, está resumida na Tabela 9. A

subpopulação que apresentou mais alelos foi CHCGO (*A* = 7,67), já TERGO apresentou o menor número (*A* = 4,22). Foram verificados alelos exclusivos em dez subpopulações ($\overline{AP}$ = 0,032), sendo CHCGO a que apresentou maior frequência de alelos privados (*AP* = 0,172). Foram verificados seis alelos privados em JAPMG, três em CHCGO, dois em ALPGO e CRIGO e um alelo em CANMG, CHGMT, MOSGO, POSGO, SILGO e TERGO (Figura 5). Com relação à riqueza de alelos privados (Tabela 9), se destacaram as subpopulações: CHCGO (R_{AP} = 0,41), JAPMG (R_{AP} = 0,30), CRIGO (R_{AP} = 0,27) e MOSGO (R_{AP} = 0,25).

Tabela 9. Estimativas das análises descritivas da diversidade genética encontrada em 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, com base em nove locos microssatélites.

Subpop.	***N***	***A***	***Ae***	***RA***	$\boldsymbol{R_{AP}}$	$\boldsymbol{\bar{H}e}$	$\boldsymbol{\bar{H}o}$	***f***	***p***	$\boldsymbol{\hat{t}_a}$
CANMG	29,444	6,330	3,480	5,020	0,130	0,596	0,595	0,002	0,933	0,996
JAPMG	32,000	6,110	3,160	4,600	0,300	0,583	0,583	0,000	1,000	1,000
CRIGO	30,000	7,440	4,370	5,790	0,270	0,636	0,585	**0,081***	0,013	0,850
POSGO	32,000	6,670	4,150	5,170	0,190	0,609	0,573	0,061	0,073	0,885
PLGGO	27,889	6,000	3,820	5,030	0,020	0,663	0,618	0,068	0,057	0,873
TERGO	11,000	4,220	2,830	4,220	0,150	0,553	0,646	**-0,180***	0,003	1,439
COCGO	27,556	5,560	3,180	4,550	0,060	0,600	0,550	**0,084***	0,031	0,845
BURMG	32,000	6,890	3,400	5,010	0,080	0,581	0,608	-0,047	0,179	1,099
BAMMG	31,778	6,000	3,400	4,790	0,090	0,570	0,523	**0,084***	0,018	0,845
CHGMT	26,556	4,670	2,610	3,690	0,180	0,543	0,509	0,063	0,176	0,881
SILGO	32,000	6,780	3,810	5,210	0,090	0,640	0,608	0,051	0,133	0,903
PATMG	26,000	5,670	2,850	4,410	0,010	0,536	0,543	-0,012	0,780	1,024
PERMG	31,000	6,440	3,750	5,190	0,030	0,635	0,624	0,018	0,591	0,965
NIQGO	32,000	5,220	2,530	3,950	0,070	0,564	0,503	**0,109***	0,008	0,803
ORIGO	32,000	5,670	2,840	4,200	0,030	0,555	0,538	0,031	0,443	0,940
CHCGO	32,000	7,670	3,480	5,590	0,410	0,628	0,635	-0,013	0,702	1,026
MOSGO	28,000	6,220	3,650	5,080	0,250	0,632	0,607	0,040	0,288	0,923
CNOGO	31,889	6,890	4,080	5,250	0,060	0,585	0,580	0,010	0,768	0,980
ALPGO	24,889	5,890	2,930	4,630	0,180	0,578	0,513	**0,114***	0,007	0,795
Total	28,947	15,330	5,450	6,890	0,137	0,594	0,576	0,031	0,000	0,951

A: Número de alelos, ***Ae***: Número de alelos efetivos, ***RA***: Riqueza alélica, $\boldsymbol{R_{AP}}$: Riqueza de alelos privados, ***Ho***: Heterozigosidade média observada, ***He:*** Heterozigosidade média esperada sob EHW; ***f:*** Índice de fixação intrapopulacional, $\boldsymbol{\hat{t}_a}$: taxa de fecundação cruzada aparente *****Valores de *p* significativos a um intervalo de confiança de 95% (p < 0,05), obtidos por 20.000 permutações.

Foram analisados os genótipos de uma média de 28,95 indivíduos por subpopulação (Tabela 9). A heterozigosidade observada média foi de 0,576, sendo o menor valor encontrado na subpopulação NIQGO (*Ho* = 0,503) e o maior valor em TERGO (*Ho* = 0,646). A diversidade genética total foi de 0,594, variando de 0,536, na subpopulação

PATMG, a 0,663 em PLGGO. O coeficiente de endogamia *f* variou de -0,180 (TERGO) a 0,114 (ALPGO), sendo significativo em seis subpopulações (Tabela 9), sugerindo baixos níveis de endogamia. Embora seja baixo, o coeficiente de endogamia global foi positivo ($\bar{f}$ = 0,310). Considerando, tanto os coeficientes de endogamia (*f*) como as taxas aparentes de fecundação cruzada ($\hat{t}_a$) de cada subpopulação, pode-se observar que oito subpopulações de *S. adstringens* são exogâmicas (Tabela 9), sendo que o valor geral desta medida ($\hat{t}_a$ = 0,951) indica que a espécie é considerada alógama.

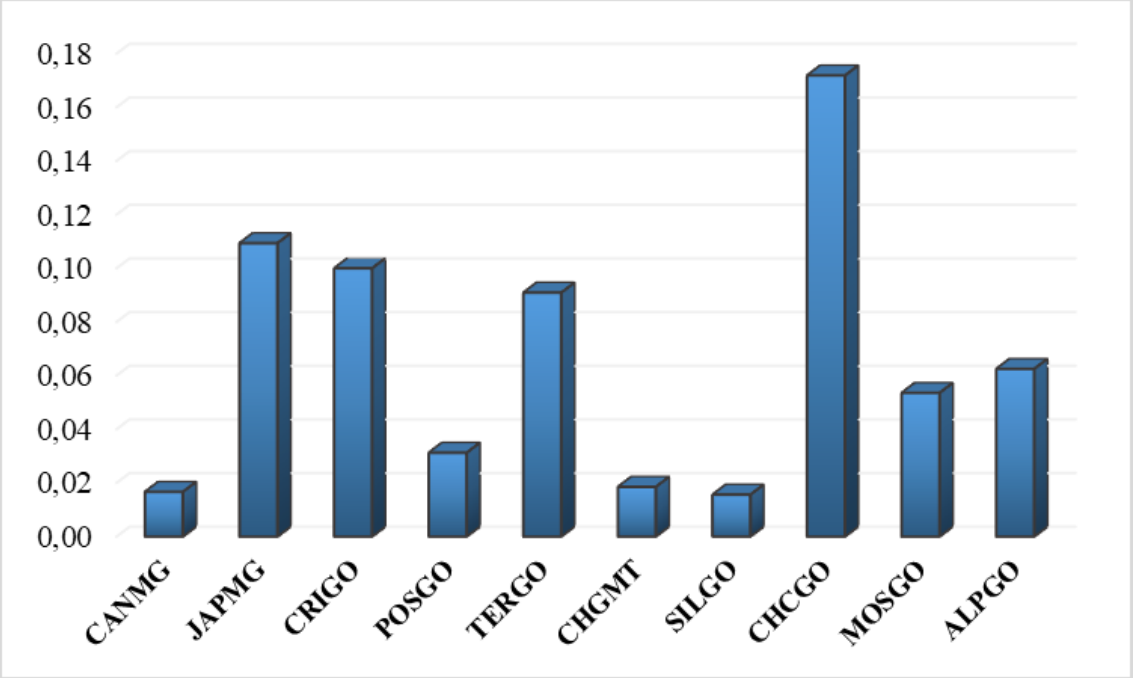


Figura 5. Frequência de alelos privados e sua ocorrência em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens.*

4.2 ESTRUTURA E DISTÂNCIA GENÉTICA POPULACIONAL

A análise de variância de frequências alélicas (Tabela 10) indicou níveis de diferenciação genética altos e significativos entre as subpopulações de *S. adstringens* (F_{ST} = 0,165; $p < 0,001$), em que a subdivisão populacional é responsável por cerca de 16,46% da variação total. De toda a variação genética, mais de 81% se encontra em nível de indivíduos (Tabela 10), sendo que o coeficiente de endogamia total também foi considerado alto e

significativo (F_{IT} = 0,1890; p < 0,001). O índice de fixação intrapopulacional teve um valor baixo e não-significativo (F_{IS} = 0,0292; p > 0,05).

Tabela 10. Estimativas obtidas pela análise de variância de frequências alélicas para as subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Mais de 16% da variação total corresponde à diferenciação entre as subpopulações.

Fonte de variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma dos Quadrados (SQ)	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre populações	18	594,97	0,52	16,46
Entre indivíduos/dentro de populações	535	1455,71	0,08	2,44
Dentro de indivíduos	554	1422,00	2,57	81,10
Total	1107	3472,68	3,16	

As análises genético-populacionais, realizadas com a espécie, estão resumidas na Tabela 11. Os níveis de diversidade genética encontrados neste trabalho foram semelhantes ao encontrado por Branco et al. (2010), que também utilizaram marcadores microssatélites, porém obtidos por transferibilidade (Tabela 11). O número médio de alelos por loco foi maior neste estudo (A = 15,33) do que nos demais. O coeficiente de endogamia foi a estimativa que mais variou entre os trabalhos, sendo que o presente estudo se aproximou mais do encontrado por Glasenapp et al. (2014), utilizando isoenzimas (Tabela 11).

Tabela 11. Dados encontrados na literatura para as principais estimativas genético-populacionais obtidas para *Stryphnodendron adstringens*.

Marcador	N	Nº Pops.	*A*	*He*	*Ho*	*f*	F_{ST}	Referência
SSRt	150	5	6,1	0,678	0,476	0,291	0,015	Branco et al., 2010
AFLP	221	12	1,39	0,246	-	-	0,291	Mendonça et al., 2012
Isoenzima	627	16	2,65	0,228	-	-0,114	0,105	Glasenapp et al., 2014
cpDNA	272	17	-	-	-	-	0,921	Braga, 2019*
nDNA	272	17	-	-	-	-	0,341	Braga, 2019*
SSR	554	19	15,33	0,594	0,576	0,029	0,165	Presente estudo

N: número de indivíduos; ***Nº Pops.***: número de populações utilizadas; ***A***: número médio de alelos por loco; ***He***: heterozigosidade média esperada; ***Ho***: heterozigosidade média observada; ***f***: coeficiente de endogamia intrapopulacional; F_{ST}: coeficiente de variação interpopulacional. *Foram utilizadas as mesmas subpopulações, com exceção de ALPGO e PLGGO, incluídas no presente estudo.

Por meio de marcadores AFLP, Mendonça et al. (2012) encontraram níveis elevados de diferenciação interpopulacional (F_{ST} = 0,2906), enquanto os marcadores microssatélites indicaram baixos níveis em Branco et al. (2010). Aqui, foi encontrado um valor médio de F_{ST} = 0,1646 próximo ao verificado por Glasenapp et al. (2014), com F_{ST} = 0,105. Este índice esteve abaixo do valor encontrado para marcadores do DNA nuclear (F_{ST} = 0,341; $p < 0,0001$) e cloroplastidial (F_{ST} = 0,921; $p < 0,0001$), mensurados para 17 das 19 subpopulações utilizadas no presente estudo (Braga, 2019).

Todos os valores de F_{ST} entre os pares de subpopulações de *S. adstringens* foram significativos ($p < 0,05$), após 10.000 permutações (Apêndice D). A menor diferenciação foi encontrada entre CRIGO e PERMG (F_{ST} = 0,045), enquanto a maior variação interpopulacional foi verificada entre ORIGO e CHGMT (F_{ST} = 0,347). A partir do dendrograma, foi possível observar a formação de três grupos principais, que se dividem em outros subgrupos (Figura 6). Pode-se constatar que a subpopulação CHGMT ficou isolada das demais subpopulações, formando o primeiro grupo (Figura 6).

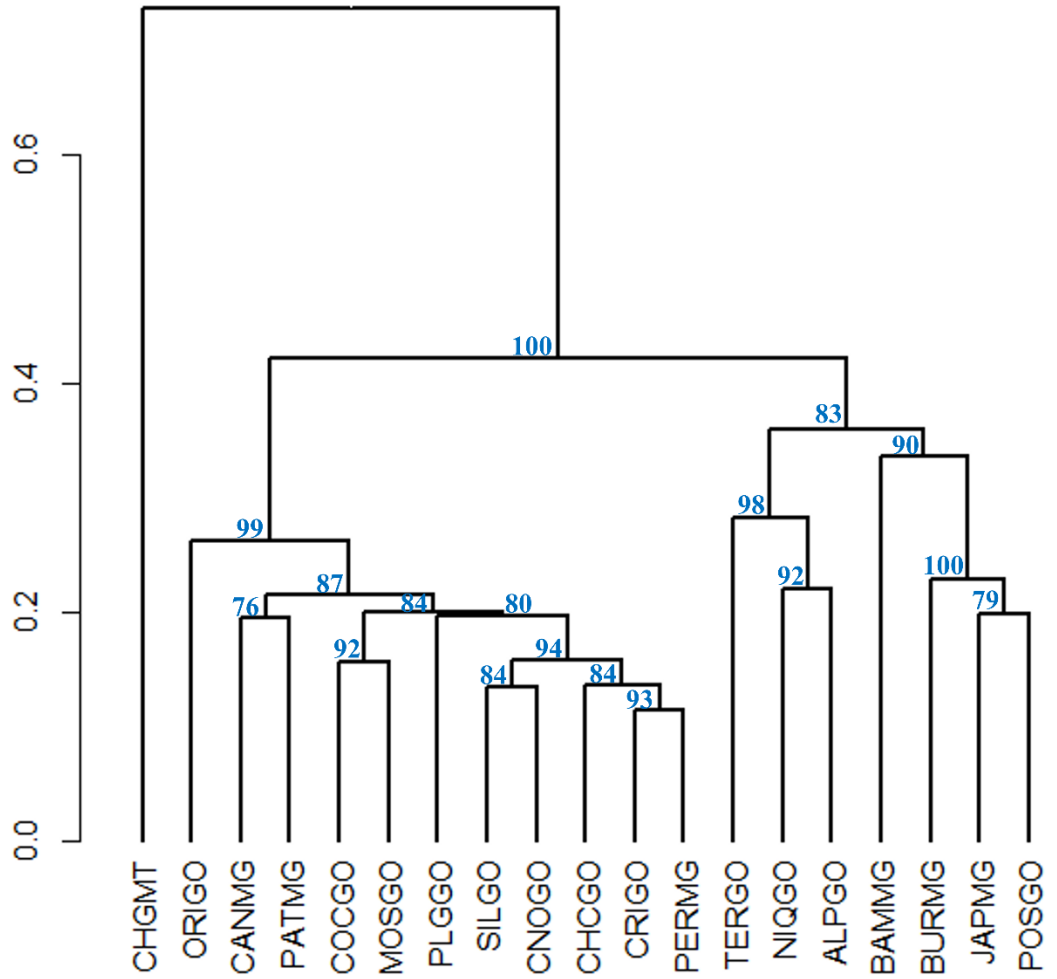


Figura 6. Agrupamento entre subpopulações de *Stryphnodendron adstringens* obtido pelo método UPGMA, a partir da matriz de F_{ST} par a par. A consistência dos nós do dendrograma foi obtida por meio de 10.000 reamostragens *bootstrap* em multiescala. Os valores em azul estão expressos em porcentagem.

O segundo grupo é formado pela maioria das subpopulações e se divide em dois subgrupos: ***2A***, representado pela subpopulação ORIGO e ***2B***, formado por dez subpopulações. Por fim, o terceiro grupo é composto por três subgrupos, representados por: ***3A***, TERGO conectada com NIQGO e ALPGO; ***3B***, formado apenas por BAMMG e ***3C***: BURMG conectada com JAPMG e POSGO (Figura 6). O valor de correlação cofenética calculado para este dendrograma foi alto e significativo (r_c = 0,89, p < 0,001).

Foi observado, através da rede de conexões (Figura 7), que a subpopulação CHGMT não apresentou nenhuma conexão com outras subpopulações, provavelmente devido à distância geográfica entre elas. O maior fluxo gênico, de fato, foi encontrado entre as subpopulações de Goiás, porém elas também mantêm algumas conexões genéticas com as subpopulações de Minas Gerais (Figura 7).

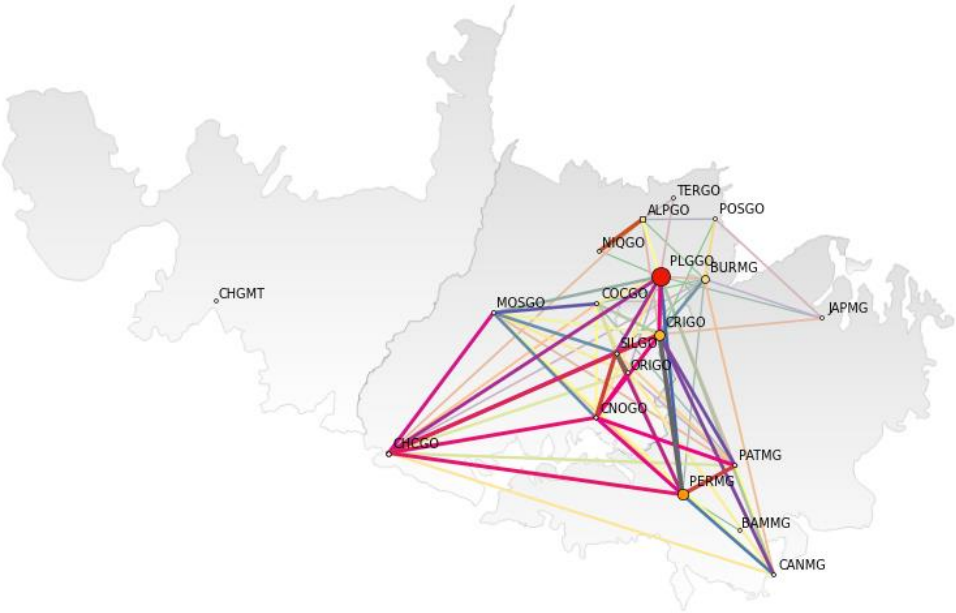


Figura 7. Rede de conexão obtida por meio da matriz de F_{ST} entre os pares de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. Os círculos correspondem às subpopulações e o tamanho deles é proporcional aos valores de centralidade de intermediação. Os ramos apresentam as vias de fluxo gênico, em que a espessura corresponde ao grau de conexão entre as subpopulações (*threshold* = 0,15).

Os nós de maior consistência correspondem às subpopulações com altos valores de centralidade de intermediação, ou seja, são prováveis áreas de importância para o fluxo gênico na espécie. Neste caso, as subpopulações PLGGO, CRIGO e PERMG apresentam os valores mais altos de intermediação, o que permite inferir que são as mais importantes na rede de conexão, logo são vias de fluxo gênico com maior ocorrência em *S. adstringens* (Figura 7). Além disto, os ramos da rede correspondem às vias de troca genética entre as subpopulações, sendo que, quanto mais espesso for esse ramo, mais intensa é a troca genética. Assim, pode-se observar que as subpopulações localizadas ao sudoeste e sudeste da área de amostragem apresentaram maior troca genética e, consequentemente, essas subpopulações tendem a ter uma menor distância genética entre elas.

A análise de descontinuidade genética apontou uma possível barreira ao fluxo gênico, isolando a subpopulação CHGMT do restante (Figura 8). A descontinuidade genética foi sugerida na região da Depressão do Médio Rio Araguaia, que compreende as regiões do Planalto dos Alcantilados, o Pediplano do Médio Rio Araguaia e o Planalto do divisor dos Rios Araguaia/Tocantins/Paraná (Figura 8).

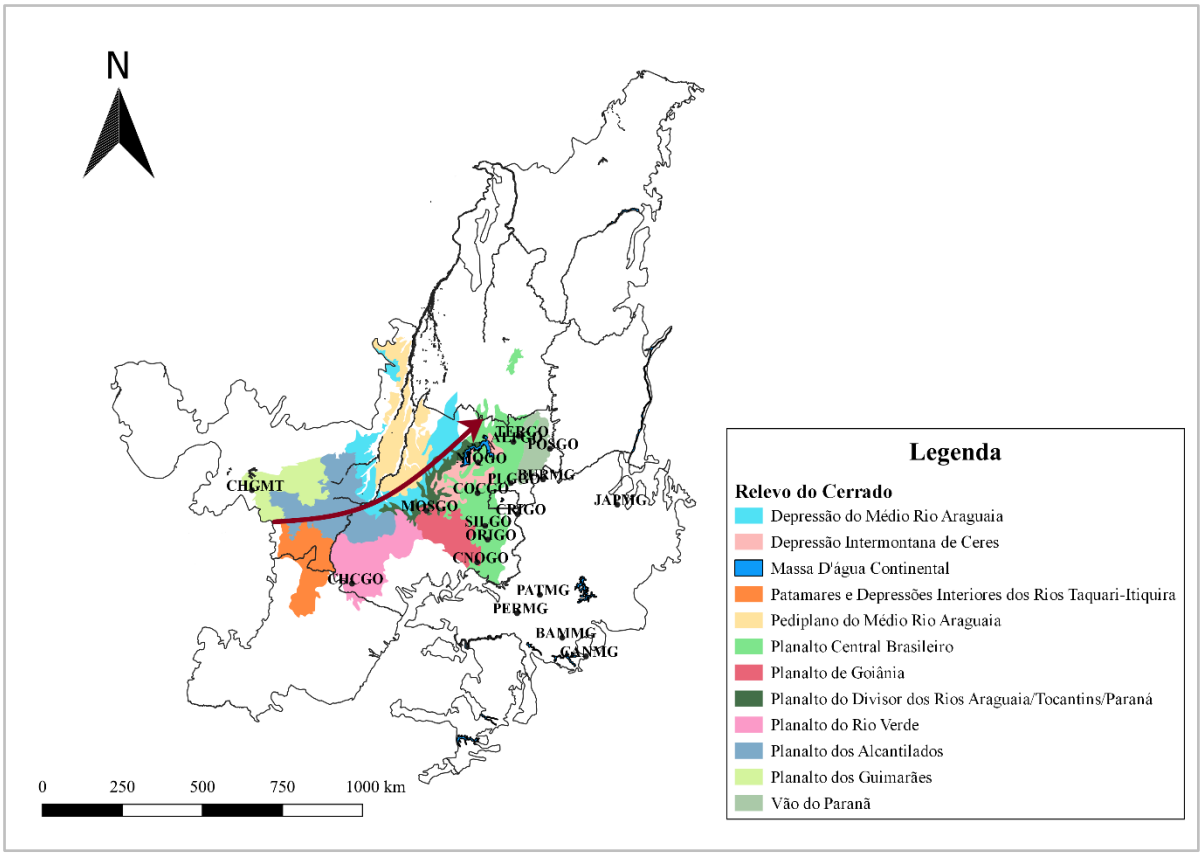


Figura 8. Mapa de componentes de relevo e hidrografia no Cerrado brasileiro, indicando a barreira genética (linha vinho). Esta barreira está situada na região do Rio Araguaia, e ocorre em regiões com diferentes planaltos e patamares, isolando a subpopulação CHGMT das demais.

Ainda em relação à distância genética, verificou-se que o espaço geográfico também constitui papel importante nessa diferenciação. O teste de Mantel indicou influência alta e significativa do espaço geográfico na diferenciação genética (r_m = 0,5695, p < 0,005), como pode ser observado na Figura 9. Neste caso, aproximadamente 32,43% da variação genética tem relação com o componente espacial (r^2 = 0,3243).

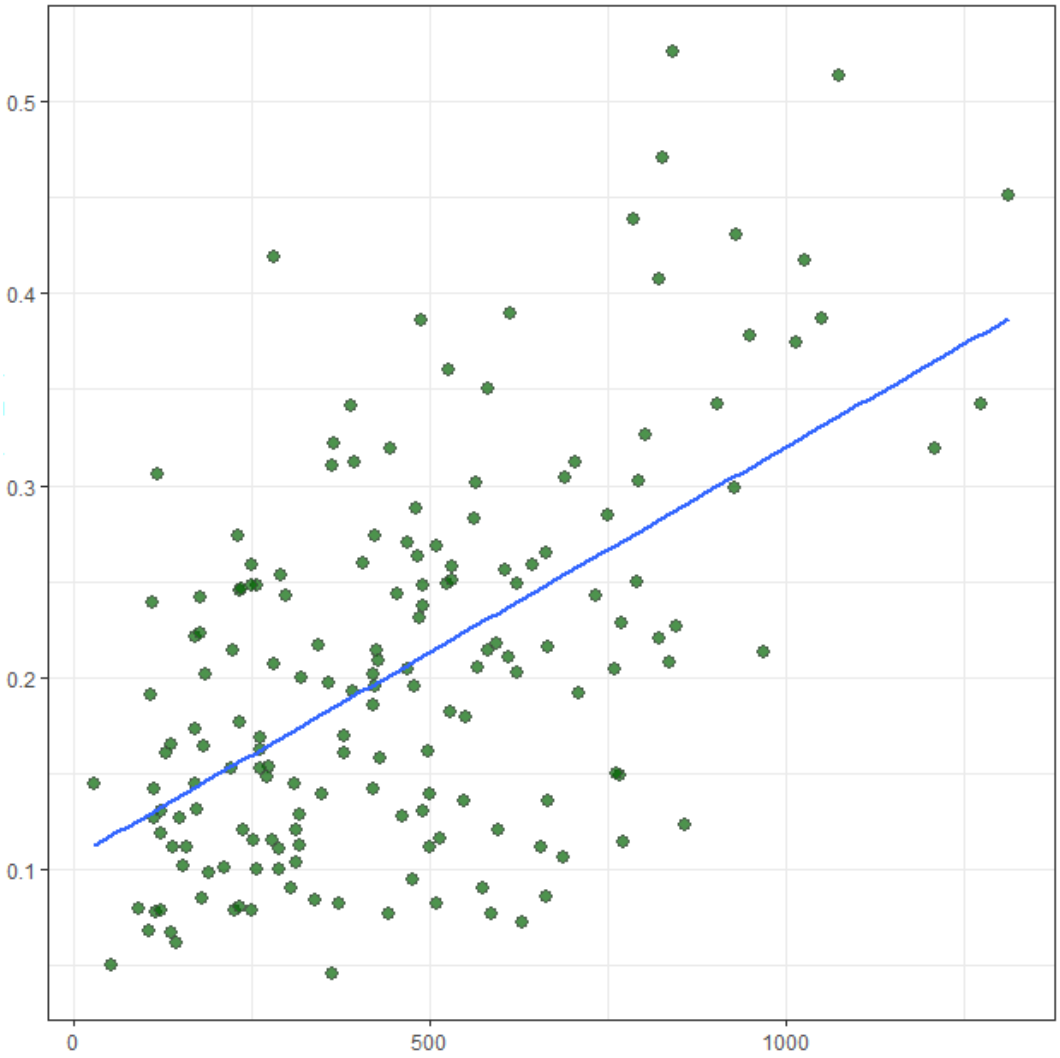


Figura 9. Gráfico de dispersão correspondente à correlação matricial entre as distâncias genéticas (eixo *y*) e as distâncias geográficas representadas em quilômetros (eixo *x*). A correlação de Mantel foi alta e significativa (r_m = 0,5695; p < 0,005). Valores obtidos por meio de 10.000 permutações.

Considerando que o espaço geográfico exerce influência significativa na diferenciação genética entre subpopulações de *S. adstringens*, foi sugerido em qual distância essa influência é mais forte (Figura 10), a partir da decomposição da distância geográfica em seis classes de distâncias (Tabela 12). O correlograma apresentou correlações de Mantel significativas na primeira e última classes de distância (Tabela 12, Figura 10), resultando em um padrão clinal da variação espacial.

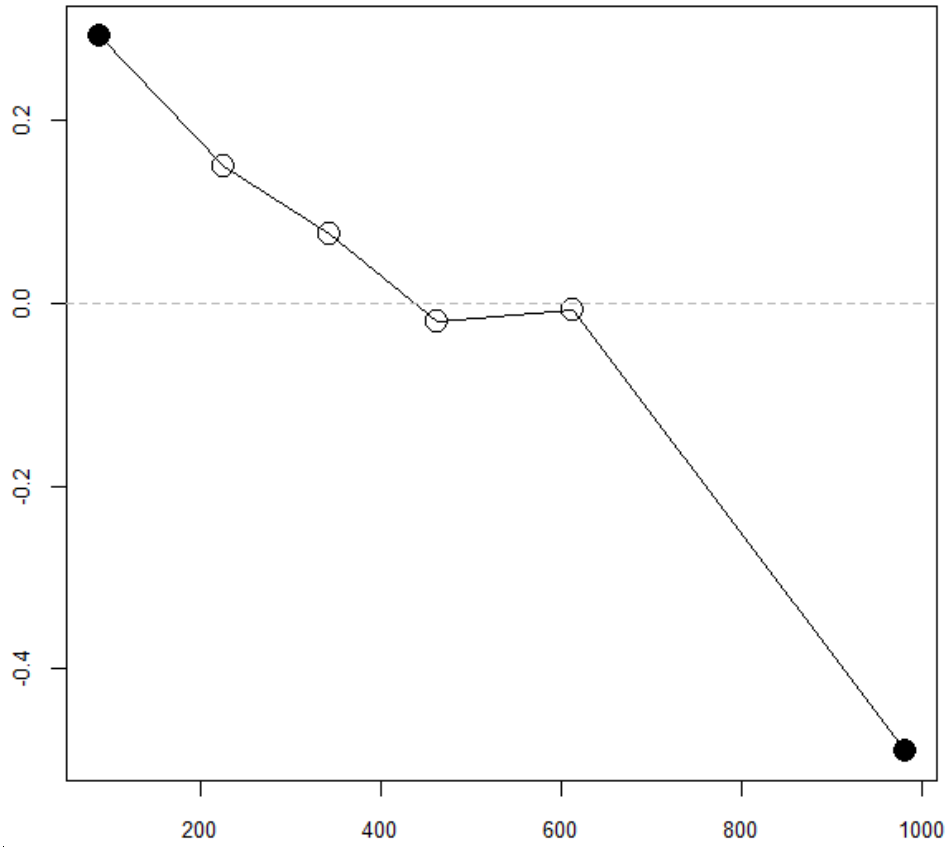


Figura 10. Correlograma de Mantel obtido a partir de seis classes de distâncias geográficas correlacionadas com as distâncias genéticas de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. O componente geográfico apresenta influência significativa na primeira e na última classe de distância, atuando efetivamente na distribuição da variabilidade genética e gerando um padrão espacial evidente. O eixo *y* corresponde à correlação de Mantel (r_m) e o eixo *x* representa as classes de distâncias geográficas, expressas em quilômetros (km).

Tabela 12. Descrição das seis classes de distâncias obtidas pelo correlograma de Mantel. Nesta análise, o espaço geográfico é decomposto em classes para verificar sua influência na distribuição da variabilidade genética em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens.*

Classes de distância	Distância (Km)	Nº de observações	r_m	valor de *p*	Limite inferior	Limite superior
1	87,2649	29	0,2936	0,0020	0,2164	0,3687
2	226,4123	28	0,1505	0,0880	0,0308	0,2564
3	343,9008	29	0,0763	0,3870	-0,0704	0,1743
4	461,7193	28	-0,0202	0,8120	-0,1444	0,0387
5	613,3039	28	-0,0081	0,9250	-0,1481	0,0890
6	981,3908	29	-0,4903	0,0070	-0,6195	-0,0883

A análise sPCA das 19 subpopulações de *S. adstringens* mostrou uma correlação significativa entre distâncias genéticas e geográficas pelo teste de Mantel (r_m = 0,1498; p < 0,001), revelando uma estrutura global explicada principalmente pelo primeiro componente principal λ1 e uma estrutura local explicada pelo eixo λ14 (Apêndices E e F). O padrão genético espacial é visualizado pelos *scores* individuais (Figura 11A) e pelo mapa de gradiente interpolado de pontuações individuais (Figura 11B).

As frequências alélicas apresentaram um padrão clinal da porção ocidental para o sudeste da área amostrada (Figura 11B). Os testes multivariados foram significativos para ambas as estruturas (Apêndice F). As estruturas locais (r_m = 0,01839; p < 0,001) foram mais frequentes dos que as estruturas globais (r_m= 0,01039; p < 0,005), indicando que subpopulações próximas podem ser geneticamente distintas (autocorrelação negativa). É possível perceber, ainda, que os *scores* negativos ocorreram com maior frequência na porção sudeste da área de amostragem, indicando que essas subpopulações são mais diferentes entre si (Figura 11A).

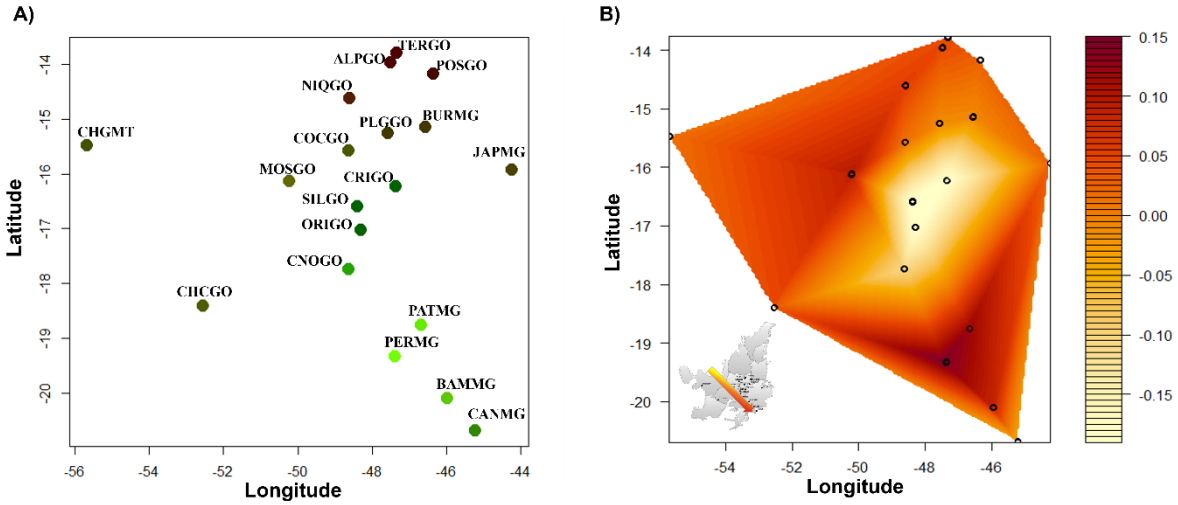


Figura 11. Análise Espacial de Componentes Principais (sPCA) de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, amostradas no Cerrado brasileiro. **A)** Representação dos valores dos *scores* ao longo do espaço geográfico. Os círculos marrons indicam valores positivos e, os círculos verdes, valores negativos. **B)** Interpolação usando uma regressão global ponderada dos *scores* genotípicos individuais. Os contornos são pontuações de componentes que representam similaridade na paisagem, com a seta indicando o gradiente encontrado na área amostrada.

4.3 HISTÓRIA DEMOGRÁFICA E PROCESSOS MICROEVOLUTIVOS

A razão-M observada nas subpopulações de *S. adstringens* variou de 0,5670 a 0,8398, sendo significativamente menor do que a razão-M esperada sob equilíbrio mutação-deriva (R_{MEq}) em quatro subpopulações: JAPMG (R_M = 0,6531, $p < 0,05$), TERGO (R_M = 0,5670; $p < 0,01$), COCGO (MR = 0,6663; $p < 0,05$) e MOSGO (R_M = 0,6979, $p < 0,05$). Portanto, há evidências que, especificamente, essas subpopulações experimentaram um evento de gargalo recente (Tabela 13).

Tabela 13. Resultados do teste de razão-M no modelo de duas fases (TPM) estimado para subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, a partir de nove locos microssatélites. A significância do teste foi obtida por meio de 10^6 permutações.

Subpop.	R_M	R_{MEq}	p
CANMG	0,7356	0,7608	0,2599
JAPMG	0,6531	0,7841	**0,0133***
CRIGO	0,8299	0,7696	0,7670
POSGO	0,7619	0,7729	0,3932
PLGGO	0,7084	0,7794	0,1195
TERGO	0,5670	0,7475	**0,0068***
COCGO	0,6663	0,7956	**0,0162***
BURMG	0,7880	0,7653	0,5225
BAMMG	0,7061	0,7693	0,1620
CHGMT	0,7201	0,7990	0,1128
SILGO	0,7630	0,7664	0,4234
PATMG	0,7055	0,7701	0,1565
PERMG	0,7105	0,7643	0,1915
NIQGO	0,7893	0,7950	0,4096
ORIGO	0,7082	0,7757	0,1549
CHCGO	0,8398	0,7634	0,8793
MOSGO	0,6979	0,7906	**0,0475***
CNOGO	0,7810	0,7651	0,5561
ALPGO	0,8189	0,7820	0,7440

R_M: média da razão-M observada; R_{MEq}, razão-M gerada sob equilíbrio mutação-deriva; p: significância estatística do teste para a deficiência na proporção M, com base no teste de postos sinalizados de Wilcoxon.
* Valores de p significativos ($p < 0,05$).

Os valores do parâmetro mutacional θ das subpopulações de *S. adstringens*, com base na análise de coalescência, foram moderados ($\bar{\theta}$ = 0,022) e significativos (Tabela 14). O menor valor de θ foi encontrado na subpopulação BURMG (θ = 0,002), enquanto

CHCGO apresentou o maior valor (θ = 0,077). Considerando o tamanho efetivo populacional calculado a partir da equação $Ne = \theta/4\mu$ (Apêndice G), CHCGO apresentou o maior valor (*Ne* = 96,30), enquanto que BURMG deteve o menor tamanho efetivo populacional (*Ne* = 2,43).

As estimativas das taxas históricas de migração em escala (*m*) variaram de 0,0076 a 0,0132 e mostraram um padrão desbalanceado entre as subpopulações (Apêndice H). O número médio de migrantes por geração (Tabela 14) foi relativamente alto entre as subpopulações de *S. adstringens*, variando de 3,59 (PATMG → PLGGO) a 108,92 (ORIGO → PATMG) migrantes por geração (Apêndice I). A subpopulação que mais recebeu migrantes foi ALPGO ($M_{méd}$ = 26,41), sendo que a maior parte dos migrantes foi proveniente de PERMG ($M_{méd}$ = 76,77). Já a subpopulação que mais doou migrantes foi BAMMG ($M_{méd}$ = 26,99), ao passo que ORIGO foi a que menos recebeu ($M_{méd}$ = 15,30). COCGO foi a subpopulação que menos contribuiu com migrantes ($M_{méd}$ = 14,65), seguida de TERGO ($M_{méd}$ = 14,91).

Tabela 14. Número de migrantes (*M*), em contexto histórico, obtido por análise de coalescência e tamanhos efetivos baseados em mutação em subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*. O número de migrantes para os pares de subpopulações está detalhado no Apêndice I. Os valores de θ são referentes ao produto entre tamanho efetivo populacional e as taxas de mutação dos marcadores microssatélites.

Subpop.	Doadoras	Receptoras	M_{mig}	θ
CANMG	21,291	20,265	20,778	0,022
JAPMG	20,687	16,572	18,630	0,010
CRIGO	22,183	22,953	22,568	0,027
POSGO	23,689	16,898	20,293	0,008
PLGGO	25,177	25,477	25,327	0,016
TERGO	14,904	22,063	18,484	0,022
COCGO	14,654	18,149	16,402	0,025
BURMG	24,557	21,417	22,987	0,002
BAMMG	26,992	21,599	24,295	0,030
CHGMT	15,474	21,166	18,320	0,006
SILGO	21,076	25,948	23,512	0,024
PATMG	18,535	25,754	22,144	0,060
PERMG	25,020	25,152	25,086	0,010
NIQGO	17,759	19,605	18,682	0,006
ORIGO	24,568	15,295	19,931	0,021
CHCGO	24,986	19,413	22,200	0,077
MOSGO	20,719	21,767	21,243	0,026
CNOGO	24,636	20,054	22,345	0,004
ALPGO	19,048	26,411	22,730	0,013

***M*$_{mig}$**: Média de migrantes.

As taxas de migração recentes (m_c) foram baixas na maioria das subpopulações de barbatimão (Apêndice J). As maiores frações de imigrantes foram condizentes às não-migrações, ou seja, referentes aos cruzamentos entre indivíduos dentro da mesma subpopulação de origem. Das 361 combinações aos pares, vale destacar os seguintes fluxos: CRIGO → PERMG (m_c = 0,135), PATMG → PERMG (m_c = 0,198), TERGO → NIQGO (m_c = 0,132), ALPGO → NIQGO (m_c = 0,195), SILGO → ORIGO (m_c = 0,213) e CNOGO → ORIGO (m_c = 0,190), que mostraram alguma evidência de fluxo gênico contemporâneo moderado e significativo ($p < 0,05$), ocorrendo principalmente da direção Norte para Sul.

Apesar das baixas taxas de migração (m), em ambos contextos, o teste de Mantel indicou que as matrizes de migração histórica e contemporânea não estavam significativamente correlacionadas (r_m = 0,0513, $p > 0,05$), sugerindo que as taxas e a intensidade das migrações mudaram ao longo do tempo entre as subpopulações. Considerando as matrizes de migração em ambos contextos e, apenas as migrações entre os pares de subpopulações, do total de 342 possibilidades, as taxas históricas superaram as contemporâneas em 225 casos. Isso demonstra que houve uma redução do fluxo gênico entre as subpopulações de *S. adstringens* do passado até gerações recentes. Vale destacar TERGO que doou mais migrantes, no contexto recente, do que doava no passado (Apêndices I e J).

4.4 GRUPOS GENÉTICOS POR INFERÊNCIA BAYESIANA

4.4.1 Grupos genéticos ancestrais

Com base na análise bayesiana realizada pelo STRUCTURE, foi possível detectar um valor de Δk = 2 grupos genéticos, pelo método de Evanno et al. (2005) e Δk = 15, pelo método de Puechmaille (2016), para *S. adstringens* (Figura 12 C-D). Entretanto, nenhum *cluster* apresentou correspondência exclusiva a uma subpopulação, demonstrando que há uma mistura significativa entre os indivíduos de *S. adstringens* (Figura 12 A-B). Pelo primeiro método, o *cluster* 1 (azul) apresentou o maior valor médio de coancestria (Θ = 60,11%), seguido do *cluster* 2 (laranja) com Θ = 39,89% (Apêndice K). Neste método, CHGMT não apresentou mistura com outros grupos genéticos, compreendendo apenas o grupo laranja em todos os indivíduos pertencentes à essa subpopulação (Figura 12A).

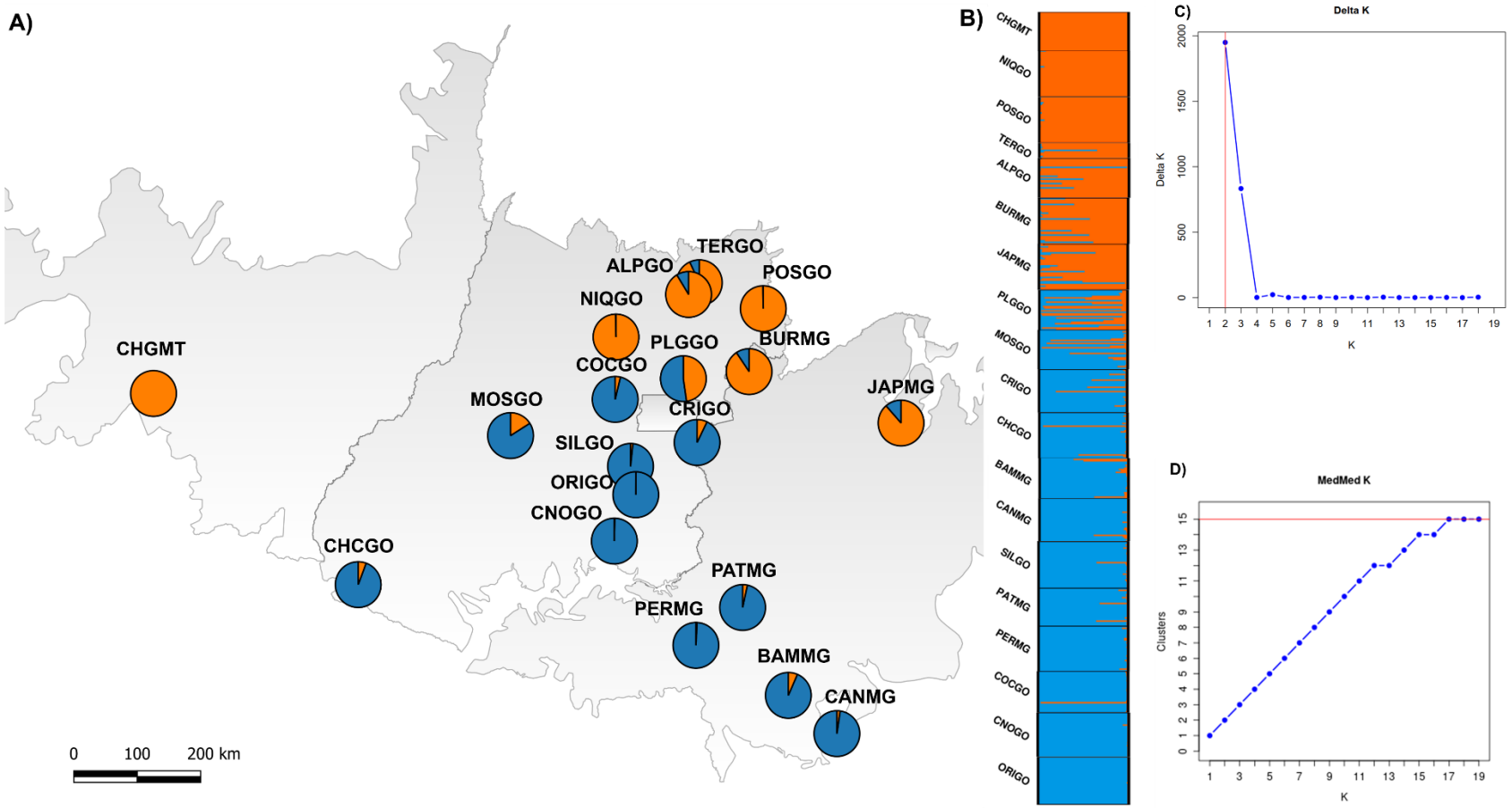


Figura 12. Teste de atribuição individual realizado por meio de análise bayesiana no STRUCTURE. Foi sugerido um valor de k = 2 grupos genéticos (Evanno et al., 2005). **A)** Padrão de distribuição dos grupos genéticos e porcentagem compartilhada entre os indivíduos de cada subpopulação de *Stryphnodendron adstringens*. **B)** Cada barra vertical corresponde a um indivíduo e as cores indicam a proporção em que o genótipo individual está alocado a determinado *cluster*. Nenhuma subpopulação apresentou correspondência exclusiva, confirmando mistura. Número de *clusters* detectados a partir de dados genotípicos de 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, por meio de análise bayesiana do STRUCTURE, baseada em 30 replicações para cada *k*. **C)** Delta *k* médio para cada *cluster* testado (1 a 20), obtido pelo método de Evanno et al. (2005). **D)** Valor de *k* médio obtido pelo método de Puechmaille (2016).

Embora a maioria das subpopulações apresente mistura genética entre si, o segundo método detectou algumas diferenças importantes no que diz respeito à coancestralidade dos indivíduos (Figura 13A). Também por este método, CHGMT se apresentou bem diferente das demais no que corresponde à composição genética dos indivíduos. Isto era esperado, considerando-se a distância geográfica entre essa subpopulação e as outras. Além desta, as subpopulações JAPMG, TERGO, CHCGO, BAMMG e CANMG apresentaram uma configuração de *clusters* bem particular, incluindo grupos ancestrais únicos, observados pelas diferentes cores (Figura 13A).

A análise espacialmente explícita do TESS indicou 14 clusters genético-geográficos (Figura 13B). Além disto, é evidente uma distribuição mais definida dos grupos genéticos entre as subpopulações de barbatimão. Essa análise também confirmou que a subpopulação CHGMT é bem distinta das demais, com destaque também para a subpopulação JAPMG.

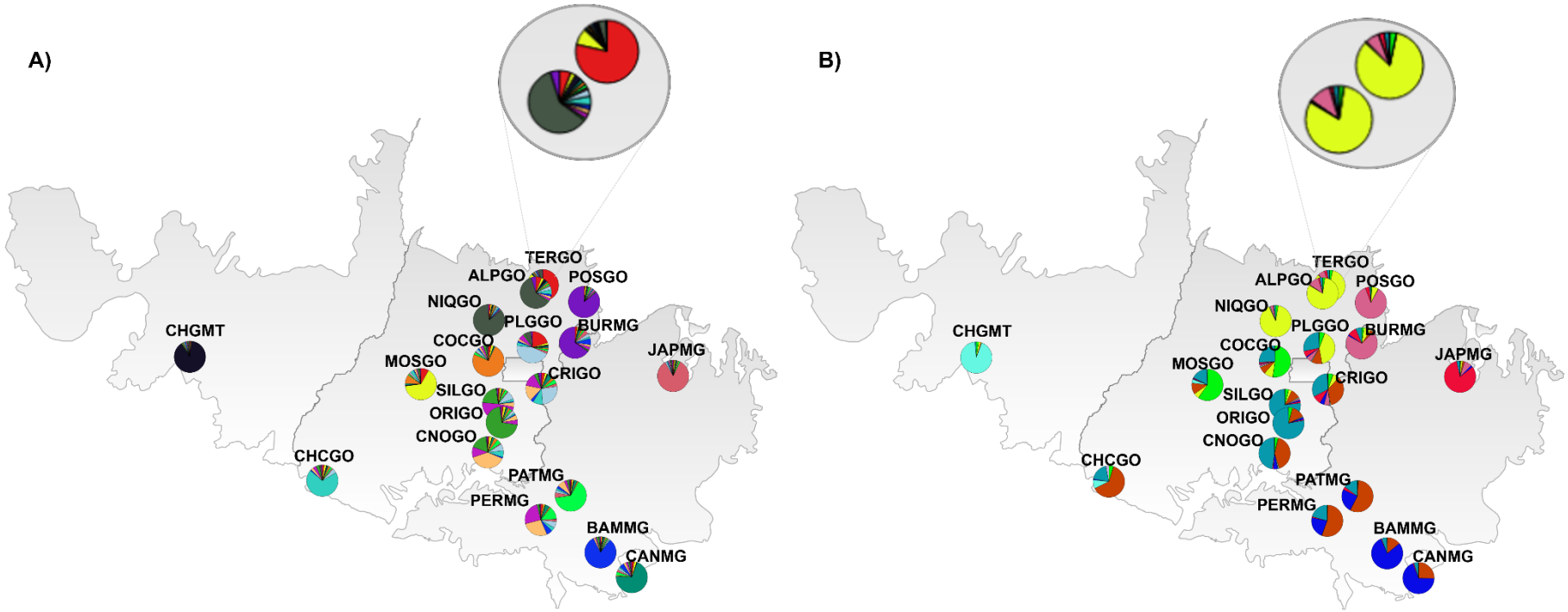


Figura 13. Padrão de distribuição de grupos genéticos de *Stryphnodendron adstringens* ao longo do espaço geográfico. **A)** Padrão encontrado apenas com os dados genéticos (STRUCTURE), pelo método de Puechmaille (2016). **B)** Grupos genéticos-geográficos de subpopulações de barbatimão, detectados por análise espacialmente explícita (TESS).

4.4.2 Estrutura espacial e fatores climáticos

A análise multivariada RDA revelou que a distribuição da diversidade genética nas subpopulações de *S. adstringens* é influenciada pelos fatores climáticos avaliados (R^2_{aju} = 0,081, p < 0,001), indicando que as quatro variáveis explanatórias explicaram, juntas, 8,1% da variação observada (Figura 14). Os dois primeiros eixos canônicos (Apêndice L) explicaram, juntos, 71,19% da variação, sendo 41,06% do primeiro eixo e 30,13% do segundo eixo, ambos significativos (p < 0,001).

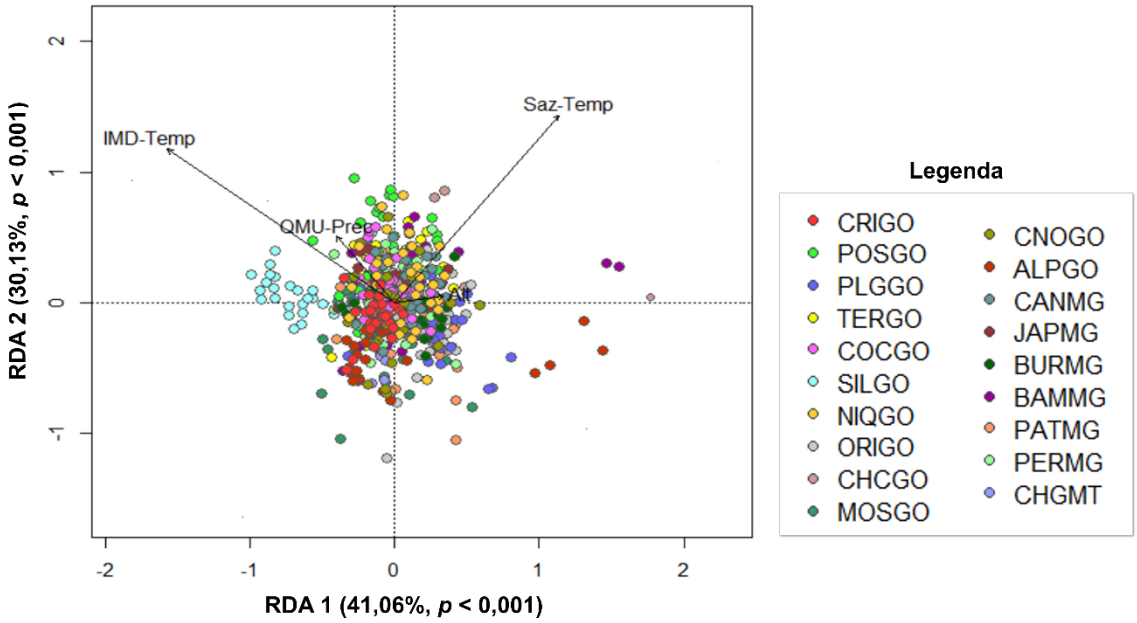


Figura 14. Análise de redundância RDA baseada entre dados genotípicos e três variáveis bioclimáticas, além da altitude. As setas mostram a força da correlação das variávies com os eixos de ordenação RDA1 e RDA2. Os círculos correspondem aos genótipos, e suas cores indicam cada subpopulação a qual os indivíduos pertencem. Variáveis consideradas na análise: ***Alt*** (Altitude); ***Saz-Temp*** (Sazonalidade da temperatura); ***IMD-Temp*** (Intervalo Médio Diurno – média mensal); ***QMU-Prec***: Precipitação do quadrimestre mais úmido.

Na análise bayesiana do PoPS, foram detectados quatro grupos genético-ambientais ($K_{máx}$ = 4) (Figura 15), distinguindo-se do número de agrupamentos obtidos sem as variáveis ambientais, em análises anteriores (Figuras 12 e 13). Os grupos encontrados tiveram alta correlação com os grupos preditos (0,99), indicando que a análise gerou *clusters* confiáveis a partir dos dados geográficos e ambientais. A análise de *turnover* intraespecífico demonstrou que a estrutura genética será completamente modificada nos cenários futuros,

bem como a probabilidade de coancestria dos grupos, onde o cenário RCP 4.5 afetará praticamente todos os grupos genético-ambientais (Figura 15D).

Para o presente, observou-se que os valores de coancestria foram equitativos nos quatro grupos detectados (Figura 15A). Entretanto, para os cenários futuros, haveria uma mudança nesse padrão (Figura 15 B-C). No cenário futuro RCP 4.5, o Cluster 3 apresentaria os maiores valores de coancestria (0,266 ± 0,208). Neste mesmo cenário, foi constatada uma redução nos Clusters 1 (0,234 ± 0,193) e 2 (0,244 ± 0,181). No cenário mais pessimista (RCP 8.5), o Cluster 4 teria valores ainda menores de coancestralidade (0,246 ± 0,195) do que nos outros dois cenários. Entretanto, o Cluster 1 permaneceria com os menores valores médios (0,246 ± 0,189), enquanto que o Cluster 3 permaneceria com os maiores valores médios (0,263 ± 0,189).

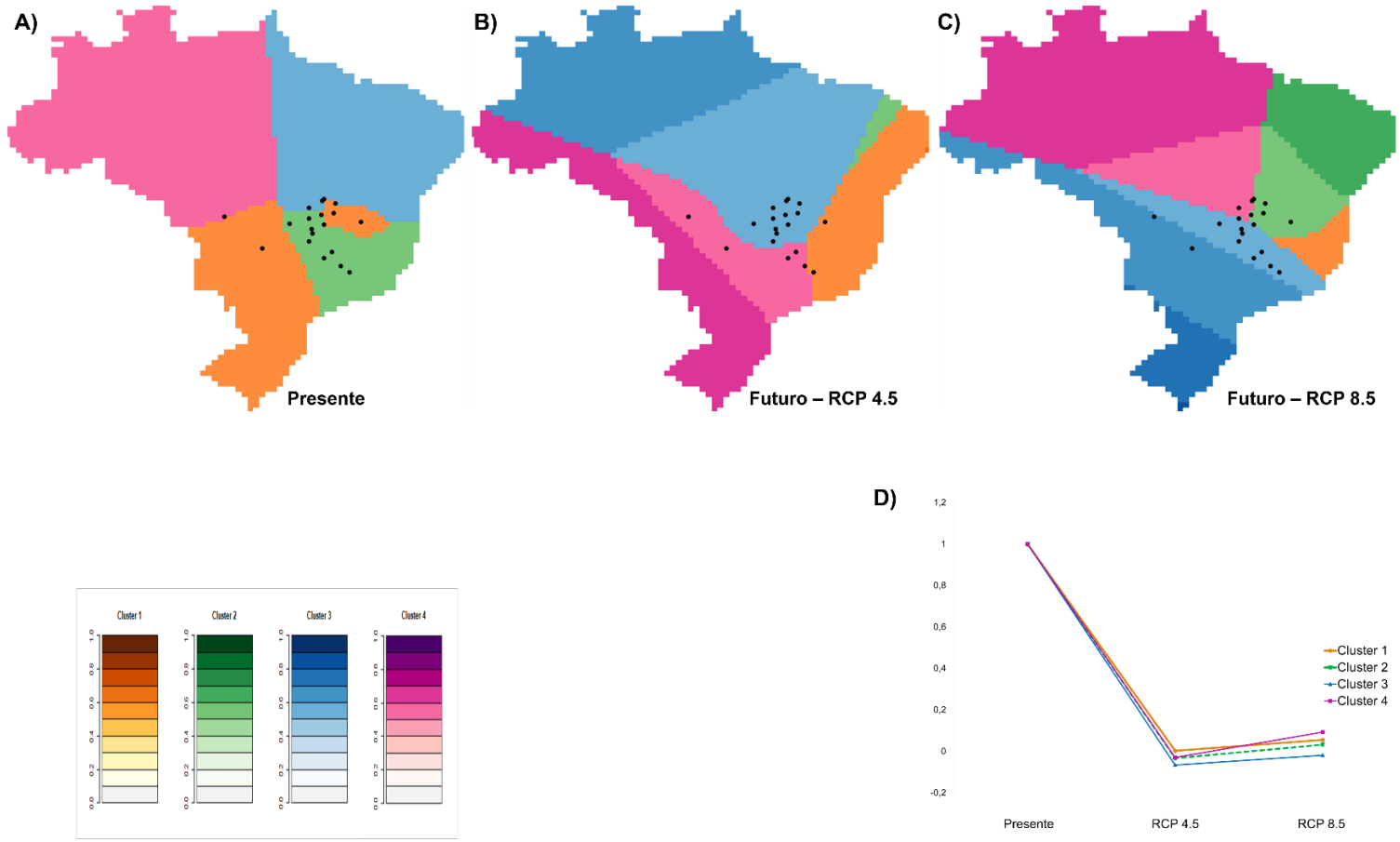


Figura 15. Agrupamentos genético-ambientais de *Stryphnodendron adstringens* indicados por meio de análise bayesiana, considerando, tanto informações genéticas quanto coordenadas geográficas e variáveis climáticas de cada subpopulação. Para cada mapa, as intensidades de cores representam as quantidades de ancestralidade genética (ou coeficientes de mistura individuais). **A)** Simulação do presente, indicando uma homogeneidade entre os grupos. Coeficientes de mistura previstos em dois cenários de mudanças climáticas futuras: **B)** menos pessimista (RCP 4.5) e **C)** mais pessimista (RCP 8.5). **D)** Coeficiente *turnover* intraespecífico medido pela correlação entre coeficientes de ancestralidade inferidos e previstos para todos os indivíduos e todos os grupos genético-ambientais. A partir do cenário 4.5, a maior parte dos *clusters* pode ser perdida com o aumento da temperatura.

4.5 CONSERVAÇÃO DE ÁREAS PRIORITÁRIAS

Na análise de busca por áreas de conservação de *S. adstringens*, seriam possíveis 524.287 soluções, para o conjunto de 19 localidades. Assim, as 19 subpopulações foram combinadas formando redes, e a solução selecionada foi aquela que representou o maior número do conjunto de 100 alelos, com o menor número de subpopulações. Após executar várias simulações para criar as redes aleatórias com $N = 7$ subpopulações, percebe-se que apenas uma média de 87 ± 5 alelos eram amostrados ao acaso e a chance de conservar todos os alelos aleatoriamente é da magnitude de $1x10^{-5}$ (Apêndice M).

Por meio desta busca, foi possível selecionar uma rede que atendeu a este requisito, indicando sete subpopulações que melhor representam a "diversidade alélica" total (Figura 16A). Com base no nível de insubstituibilidade (IRR), foram apontadas oito subpopulações, das quais seis obtiveram *IRR* = 1 (Figura 16B). Tomando em consideração as subpopulações escolhidas como representativas da diversidade alélica e o *ranking* de insubstituibilidade, foi possível indicar as seguintes subpopulações como prioritárias para a conservação: TERGO, POSGO, CRIGO e MOSGO, localizadas na porção central do mapa de amostragem; CHCGO, na porção sudoeste e BAMMG, na porção sudeste (localidades destacadas em preto na Figura 16B).

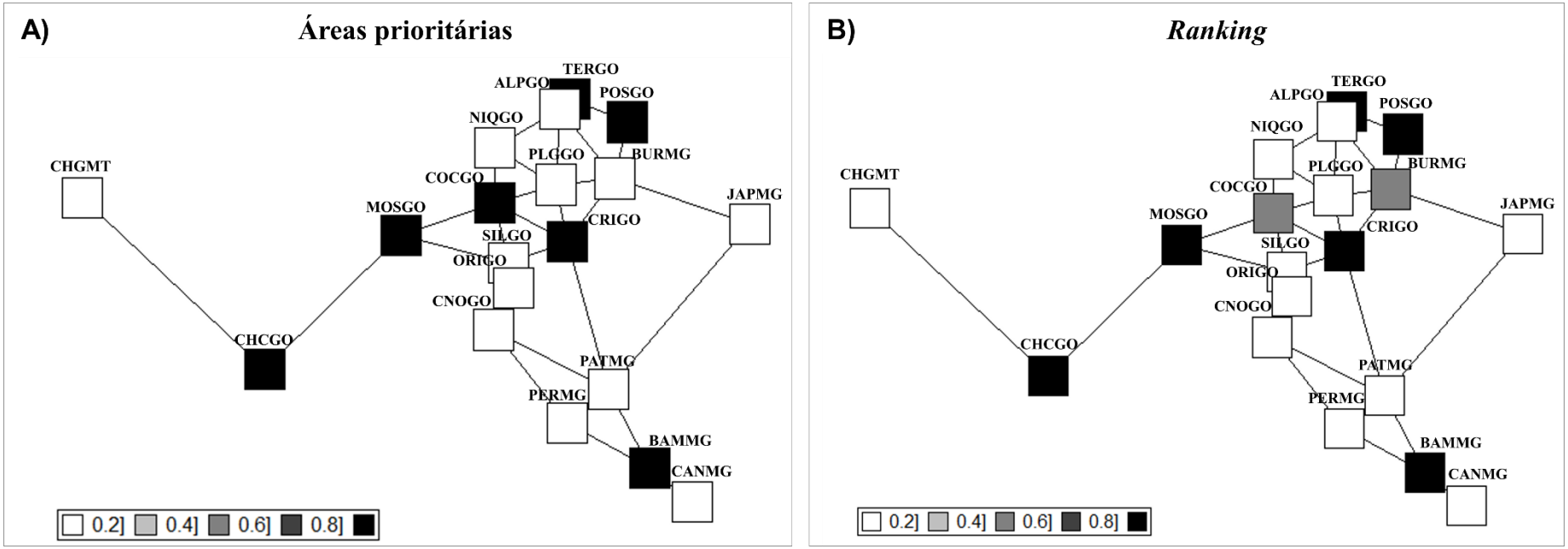


Figura 16. Padrões geográficos obtidos para a amostragem de 100 alelos (*fa* > 0,05) de nove marcadores microssatélites. **A)** A melhor solução para representar o maior número possível de alelos, com o menor número de subpopulações, indicou sete localidades, destacadas em preto. **B)** Mapa sintético do *ranking* das subpopulações, a partir do grau de insubstituibilidade. As áreas em preto apresentaram *IRR* = 1 e são consideradas prioritárias para a conservação.

5 DISCUSSÃO

5.1 DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E SISTEMA REPRODUTIVO

O nível de diversidade genética de *S. adstringens*, como observado neste estudo e em Braga (2019) está relacionado tanto a fatores ambientais quanto a fatores de sua história evolutiva. Esses fatores parecem ser mais determinantes na distribuição da diversidade genética na espécie do que sua própria biologia. Como *S. adstringens* apresenta ampla distribuição pelo bioma Cerrado, incluindo zonas fragmentadas, era esperado encontrar baixos níveis de diversidade genética nas subpopulações avaliadas, uma vez que os processos históricos podem levar à fragmentação e contração da faixa de distribuição, como foi detectado em estudos modelagem de nicho da espécie (Barbosa et al., 2019). Entretanto, a diversidade genética encontrada em todas as subpopulações foi de moderada a alta, com base nos nove locos microssatélites avaliados no presente estudo (Tabela 8). Níveis semelhantes foram encontrados para outras espécies de leguminosas do Cerrado, como *Anadenanthera colubrina* (Feres, 2013) e *Dimorphandra mollis* (Souza et al., 2017).

Os índices de estrutura genética indicados (F_{ST} = 0,165) demonstraram uma diferenciação significativa entre as subpopulações de *S. adstringens*, assim como o encontrado para a região *ITS* do genoma nuclear da espécie (F_{ST} = 0,341, p < 0,0001), em estudo de filogeografia que avaliou praticamente as mesmas subpopulações desta tese (Braga, 2019). Esses índices indicam que a distribuição da variabilidade genética na espécie ocorre, não somente em função de processos estocásticos, tais como a deriva genética, mas também devido ao seu sistema reprodutivo. O valor médio de F_{ST} foi menor para os dados de microssatélites do que para *ITS* e *cpDNA* (F_{ST} = 0,921, p < 0,0001) (Braga, 2019). Isso se deve à natureza dos marcadores, em que marcadores nucleares coalescem em um tempo mais antigo enquanto que os microssatélites apresentam uma maior taxa de substituição nucleotídica, correspondendo ao um tempo mais recente (Oliveira et al., 2006). Embora os

valores absolutos de F_{ST} tenham diferido em todos os marcadores utilizados para análise genética em *S. adstringens* (Tabela 10), a maioria chegou a uma conclusão semelhante: existe estruturação de moderada a alta nas populações da espécie. A maior diferença foi detectada em marcadores microssatélites transferidos (Branco et al., 2010), cujo F_{ST} foi baixo e a endogamia intrapopulacional foi alta (f = 0,29). Essa diferença pode ser explicada pela amostragem restrita que foi conduzida neste estudo, em que as populações tinham uma distância máxima de aproximadamente 165 km. Esse alto índice de endogamia foi corroborado pelo estudo intrapopulacional realizado com a espécie, que indicou uma endogamia intrapopulacional alta (f = 0,11) e significativa (Miranda, 2020).

O número de migrantes, calculado com base na equação de Wright (1951) Nm = 1/4((1/F_{ST})-1), foi maior para dados de microssatélites (Nm = 1,2652), do que para marcadores cloroplastidiais (Nm = 0,0214), indicando que o fluxo gênico biparental é mais efetivo para essas subpopulações. Além disso, a dispersão de pólen tem maior eficiência na espécie do que o fluxo via sementes, já que a razão entre as dispersões de pólen e sementes ($r_{ps} = m_p/m_s$*) foi maior que um (r_{ps} = 58,72), o que pôde ser confirmando em Braga (2019), em que o número médio de migrantes foi abaixo de um. Isto era esperado, já que *S. adstringens* é uma espécie polinizada por insetos e sua dispersão ocorre principalmente por autocoria (Felfili et a., 1999; Pilon et al., 2015), com pequenos mamíferos agindo como dispersores secundários de suas sementes (Oliveira, 1991; Felfili et al., 1999). O baixo índice de formação de frutos viáveis (Firetti, 2001; Ortiz et al., 2003) também pode ser considerado um dos fatores que influenciam na baixa eficiência de dispersão de sementes na espécie.

Nas últimas décadas, alguns estudos apontaram a resiliência de espécies arbóreas aos efeitos negativos da fragmentação, graças às altas taxas de fluxo gênico (Rosas et al., 2011; Collevatti et al., 2014). Além disso, espécies do Cerrado apresentam alta resiliência aos efeitos do fogo e, especialmente *S. adstringens* tende a emitir brotos radiculares após queimadas controladas em períodos quadrienais, mantendo sua densidade populacional (Diniz & Franceschinelli, 2014). Comportamentos resilientes dessa natureza podem ser responsáveis em retardar perdas drásticas de diversidade genética em espécies endêmicas do Cerrado. Sendo assim, a biologia da espécie também pode ser importante, na mesma medida que os fatores evolutivos, na distribuição da diversidade genética de *S. adstringens*. A reprodução vegetativa por raízes gemíferas (Rizzini & Heringer, 1966) ou pela emissão de

brotos caulinares (Diniz & Franceschinelli, 2014) se mostrou bem comum em *S. adstringens* (Miranda, 2020). Esse tipo de reprodução pode levar ao agrupamento espacial de genótipos, que depende das características da propagação vegetativa, sendo mais acentuado onde os rametes se estabelecem muito próximos aos genetes parentais, desenvolvendo uma estratégia de propagação com pouca mistura de clones (Ennos, 2001).

Espécies que exibem sistema misto de reprodução, com propagação clonal e reprodução sexuada, têm uma maior vantagem para a colonização de novo ambientes, além de tornar as espécies mais resistentes aos diferentes tipos de estresses abióticos, tais como as queimadas, muito frequentes no Cerrado (Hoffmann & Solbrig, 2003). Plantas que realizam reprodução vegetativa também aumentam sua ocupação no espaço geográfico, devido à formação de novos indivíduos, distantes espacialmente e fisiologicamente independentes, após a formação dos rametes (Eriksonn, 1993). A presença de clonalidade, além de estar relacionada a distúrbios, pode ser maior nos limites das faixas de distribuição da espécie, principalmente se a reprodução sexual tiver alguma limitação e o sucesso reprodutivo estiver comprometido (Silvertown, 2008). Entretanto, a biologia reprodutiva de *S. adstringens* necessita de estudos mais detalhados, desde os mecanismos de autoincompatibilidade, que ainda estão na penumbra, até os processos de dispersão de pólen e sementes, em que a distância de fluxo gênico ainda é desconhecida.

A presença de clones em grande parte das subpopulações amostradas são um reflexo da resiliência de *S. adstringens*. Porém, um dos critérios para a coleta de tecido vegetal para estudos populacionais é a manutenção de uma distância razoável entre os indivíduos, então não era esperado que clones tivessem sido amostrados em nenhuma subpopulação (Tabela 6). Além disso, a redução do número de genótipos diferentes em TERGO foi inesperada, uma vez que se trata de um local próximo ao Parque da Chapada dos Veadeiros, ou seja, encontra-se em uma região de preservação ambiental. A clonalidade detectada nessa região poderia ser histórica, com eventos de reprodução vegetativa ocasionados por outros fatores que não distúrbios ambientais. Dessa maneira, um estudo detalhado de genética intrapopulacional seria indicado nessa subpopulação, a fim de esclarecer a influência da reprodução vegetativa sobre a estrutura genética em *S. adstringens*.

Outra questão curiosa sobre essa subpopulação (TERGO) foi o excesso de heterozigotos, muito acima do esperado pelo *EHW* (Tabela 9). Só o fato de apresentar reprodução vegetativa não traria mudanças na estrutura genética, a menos que os heterozigotos levassem vantagem. O valor de F_{IS} indica que plantas clonadas muito

vigorosas talvez estejam dominando a região. Por exemplo, uma planta muito vigorosa que apresente uma alta capacidade de brotação, em que o vigor esteja ligado à heterozigose (o que é esperado), poderia aumentar o número de indivíduos clones na população e desequilibrá-la, devido ao excesso de heterozigotos. Então, esse excesso pode estar ligado à reprodução assexuada, desde que a seleção natural esteja atuando a favor dos heterozigotos. Isto seria uma hipótese a ser estudada e explorada em estudos futuros.

Foi detectado gargalo genético recente em quatro das 19 subpopulações avaliadas (Tabela 13). Entretanto, a diversidade genética ainda foi mantida em um nível considerável em todas as subpopulações avaliadas, provavelmente devido a características que podem favorecer a alta variabilidade nas espécies arbóreas, tais como *S. adstringens* (Broquet et al., 2010). Considerando que o número de espécies está reduzindo desde o *LGM* - Último Máximo Glacial (21.000 anos A.P., antes do presente), ao menos um efeito de gargalo deveria ser assumido, porém não é uma regra (Garza & Williamson, 2001; Lowe et al., 2017). O alto número de alelos raros ou de baixa frequência (Apêndice B) pode, inclusive, sugerir que as subpopulações experimentaram um gargalo menos grave e agora estão em fase de expansão (Walas et al., 2019).

A modelagem de nicho ecológico para a espécie apontou possível retração da área de adequabilidade, a partir do *LGM*, concentrando maior adequabilidade no centro do Cerrado e, restringindo-se no futuro, às regiões mais ao sudeste do Bioma (Barbosa et al., 2019), padrão também encontrado para *Dipteryx alata*, outra espécie da família Leguminosae (Ribeiro et al., 2019). Os dados de microssatélites corroboram a análise filogeográfica, que apontou que os eventos de expansão são muito recentes para as subpopulações de *S. adstringens* (Braga, 2019). Sugere-se, portanto, que essas subpopulações tenham passado por efeito fundador, a partir de eventos de maior difusão alélica (*surf alélico*) e, que devido ao seu reduzido tamanho efetivo, observado na análise de coalescência (Apêndice G), tenham sofrido maior impacto da deriva genética (Diniz-Filho et al., 2013; Braga, 2019).

5.2 ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL E FLUXO GÊNICO

A estrutura genética populacional de uma espécie com ampla distribuição pode ser afetada tanto por fatores geográficos quanto por fatores ambientais e climáticos. A temperatura, por exemplo, é fator fundamental para as espécies de abelhas terem sucesso na visitação de flores (Soares, 2016) e, portanto, influencia na dispersão de pólen. As simulações de modelagem de nicho (Barbosa et al., 2019) e estudos filogeográficos (Braga, 2019) corroboram os dados encontrados para microssatélites, indicando que as variações climáticas têm impacto importante na distribuição da diversidade genética nas populações de *S. adstringens* (Figuras 14 e 15), comprometendo a permanência de alguns grupos genéticos. As associações entre essas variáveis são responsáveis, não só pela divergência entre populações, como também podem indicar possíveis barreiras ecológicas ao fluxo gênico (Orsini et al., 2013; Sexton et al., 2013). Dessa maneira, as mudanças climáticas podem levar a alterações nos habitats das espécies, reduzindo, assim, o sucesso de colonização de imigrantes em novos ambientes e, consequentemente, acelerando os efeitos da deriva genética, a partir da fixação de alelos. Assim, o isolamento genético entre as populações pode ser acelerado, à medida que as chances de sucesso de cruzamento entre indivíduos de populações diferentes diminuam (Jiang et al., 2019).

A distribuição agregada dos indivíduos de *S. adstringens* (Meira et al., 2016), observada em algumas subpopulações, pode dificultar, não somente o desenvolvimento dessa espécie devido à competição intra e interespecífica, como pode comprometer o fluxo gênico, ao isolar geneticamente um agregado do outro. Este isolamento também pode favorecer a perda de diversidade genética por deriva genética (Frankham et al., 2014). Dessa forma, era esperada a diferenciação genética encontrada entre as subpopulações de barbatimão (F_{ST} = 0,165). Valores próximos de estruturação genética também foram detectados em outras leguminosas nativas do Cerrado, tais como *Dimorphandra mollis* (Souza et al., 2017) e *Erythrina velutina* (Souza et al., 2016).

A detecção de isolamento por distância significativo, visualizada tanto no gráfico de dispersão (Figura 9) quanto no correlograma (Figura 10), indica que a distância geográfica entre as subpopulações de *S. adstringens* é responsável pela diferenciação genética detectada. Isto significa que os fatores da história de vida da espécie, tais como a contração da faixa de distribuição ocasionada pelas mudanças climáticas (Barbosa et al.,

2019), são um dos responsáveis pela estrutura genética espacial detectada em barbatimão. Os baixos níveis de mistura entre subpopulações de regiões geográficas distantes (Figura 13) e as baixas taxas de fluxo gênico recente (Apêndice J) configuram as limitações na conectividade genética atual entre essas subpopulações (Figura 7), que são uma das consequências da retração da faixa detectada no *LGM*. Isso pode ser verificado pelos altos índices de F_{ST} entre as subpopulações localizadas nos pontos extremos da área de coleta, tais como CHGMT e CANMG (F_{ST} = 0,31), que também estão mais distantes, ao passo que, SILGO e ORIGO (F_{ST} = 0,049) apresentaram um dos menores índices de diferenciação genética, com uma distância aproximada de 80 km entre elas (Apêndice D).

A análise do STRUCTURE indicou divergências genéticas razoáveis em subpopulações periféricas (CHGMT, CHCGO, TERGO, JAPMG e CANMG) e uma composição genética distinta em MOSGO e COCGO, localizadas na região central de Goiás, em comparação com as demais subpopulações do estado (Figura 13). As subpopulações da porção norte também se mostraram bastante diferentes das localizadas ao sul da amostragem (Figura 12). O fato de CHGMT estar separada das demais subpopulações devido à presença do Rio Araguaia (Figura 8), pode ter contribuído para a diferenciação encontrada entre essas subpopulações, tanto em análises implícitas como explícitas. Uma maneira de verificar se a barreira genética encontrada nessa localidade é causada por isolamento físico, seria a amostragem de outras subpopulações no estado do Mato Grosso.

As análises filogeográficas destacaram a importância das subpopulações do centro-oeste e nordeste da amostragem (Braga, 2019), que estão localizadas na Serra Geral de Goiás, refúgio histórico importante para a biota durante as flutuações climáticas do Quaternário (Werneck et al., 2012). Essa região, geologicamente complexa, é formada por planaltos, onde se originam várias cabeceiras (Werneck et al., 2012), podendo gerar divergências genéticas entre as populações. A média de F_{ST} entre TERGO e as demais subpopulações ($\bar{F}_{ST}$ = 0,1896) exemplifica essa afirmação. TERGO está localizada na extremidade norte da amostragem, próxima à região do Vão do Paranã. Essa região, devido a seus grandes declives, pode produzir obstáculos ao fluxo gênico e ser responsável pela diferenciação genética observada (Braga et al., 2019). Além disto, a Chapada dos Veadeiros também foi apontada como um refúgio histórico do Cerrado (Werneck et al., 2012) e, portanto, pode ser uma das causas da diferenciação genética encontrada na subpopulação CHGMT, a qual apresentou o maior valor médio dessa medida ($\bar{F}_{ST}$ = 0,2701). Era esperada

essa diferença entre CHGMT e as outras subpopulações justamente por causa da distância geográfica entre elas, de mais de 1.000 km.

Os baixos níveis de fluxo gênico, tanto histórico quanto contemporâneo, também são responsáveis pela divergência genética interpopulacional. A rede de conexões (Figura 7) e as matrizes de migração (Apêndices H e J) indicam fluxo gênico assimétrico, restrito a poucas subpopulações, com maior intensidade na direção norte-sul da área amostrada. Este fato pode ser representado no mapa de grupos ancestrais gerado pelo método de Evanno et al. (2005), em que as subpopulações do centro-sul apresentaram uma composição genética semelhante (Figura 12). PLGGO foi apontada como a via de fluxo gênico mais importante para a espécie (Figura 7), o que também foi sugerido nas análises bayesianas espacialmente implícitas e explícitas, contendo vários grupos genéticos nessa subpopulação (Figura 13). Esses resultados foram corroborados pela análise de fluxo gênico histórico, em que a maior média das migrações foi encontrada nessa subpopulação (Tabela 14). Entretanto, a estruturação genética encontrada em *S. adstringens* mostra que o fluxo gênico entre a maioria das subpopulações é muito baixo para poder neutralizar os efeitos da divergência acumulada. Isto se deve aos mecanismos de dispersão de pólen e sementes. Como a espécie é polinizada por abelhas e outros insetos (Ortiz et al., 2003), o alcance do pólen é limitado a poucos metros. Dessa forma, a curta distância de dispersão (não só de pólen, mas também de sementes) não é capaz de promover uma conectividade entre subpopulações tão disjuntas.

Embora a maioria das subpopulações avaliadas neste estudo não tenham uma alta endogamia, é importante salientar que a perda de diversidade em eventos futuros (Figura 15) pode gerar depressão por endogamia, devido ao aumento da homozigose. O excesso de homozigotos, descrito em algumas subpopulações, pode também ser gerado pelo efeito *Wahlund*. A análise do STRUCTURE (Figura 12), inclusive, revelou subestruturação em todas as subpopulações de barbatimão, exceto em CHGMT, sugerindo possíveis grupos locais de reprodução (Walas et al., 2019). As misturas genéticas, indicadas nos mapas de grupos genéticos, podem ser explicadas pela distribuição mais ampla no contexto histórico e a consequente troca genética mais intensa no passado entre as subpopulações de *S. adstringens*. Essa afirmativa é corroborada pelas taxas de migração históricas (Apêndice H) e pela modelagem de nicho ecológico (Barbosa et al., 2019), uma vez que foi constatado um maior fluxo gênico entre as subpopulações no passado (do que no presente) e a área de adequabilidade para a espécie reduziu drasticamente desde o *LGM*. Isto demonstra que, as populações eram maiores e mais estáveis no passado, além de estarem conectadas via fluxo

gênico, o que protegia a espécie dos efeitos negativos da fragmentação de habitat (Walas et al., 2019). As diferenças entre os fluxos gênicos históricos e contemporâneos se devem, provavelmente, à degradação do habitat natural da espécie ocasionada pelas ações antrópicas, tais como o desmatamento e o uso da terra para o agronegócio (IBGE, 2012). Essas ações podem ter contribuído para a perda ou redução de conectividade entre algumas subpopulações, aumentando a diferenciação genética entre elas devido aos efeitos da deriva genética, que atua mais fortemente em subpopulações com tamanho efetivo reduzido a partir de eventos de gargalo (Antiqueira et al., 2014).

O impacto que as distâncias geográficas e/ou o clima exercem na divergência genética interpopulacional pode revelar o grau de resiliência de uma espécie a habitats heterogêneos (Savolainen et al., 2007). As adaptações locais podem ser afetadas tanto pela distância geográfica quanto pela heterogeneidade entre as subpopulações. O isolamento por distância, observado neste estudo, revela que a rotatividade da variabilidade genética necessita de alelos provenientes de populações vizinhas (Jiang et al., 2019). As estruturas locais e globais indicadas pela análise multivariada sPCA (Figura 11, Apêndice F) tiveram praticamente o mesmo nível de importância na distribuição da variabilidade genética nas subpopulações de barbatimão. Entretanto, a presença de estrutura local indicou que, mesmo que algumas subpopulações estejam próximas geograficamente, pode haver algum empecilho para trocas genéticas entre elas, tornando-as diferentes geneticamente.

Os padrões clinais observados na sPCA (Figura 1) indicam, ainda, que as frequências alélicas aumentaram gradativamente em direção ao sudeste da amostragem. Esses clines espaciais podem estar relacionados a vários fatores e, partindo do pressuposto que os marcadores utilizados neste estudo são neutros, podemos associar a eventos migratórios, em que há uma expansão e/ou retração da área de distribuição dos alelos através do espaço (Diniz-Filho et al., 2013), além de subdivisões populacionais que ocorreram durante os eventos climáticos do Pleistoceno (Lima, 2016).

5.3 CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE

Como foi apontado anteriormente, a faixa de distribuição da espécie alterou e vem contraindo desde o *LGM*, além do habitat natural de *S. adstringens* ter sido bastante

fragmentado nas últimas décadas. Devido a isto, há uma tendência de que a diferenciação genética entre as subpopulações aumente ainda mais, pois o fluxo gênico não parece ser suficiente para manter a conexão entre elas. Embora o barbatimão tenha uma ótima adaptação ao fogo e consiga se estabelecer em regiões degradadas, é necessário mitigar as ações de desmatamento do Cerrado, para que esta e tantas outras espécies não sofram perdas de diversidade genética. As ações antrópicas, associadas às mudanças climáticas, impactam diretamente na biologia das espécies, especialmente endêmicas, impedindo-as de se adaptarem e colonizarem novos ambientes (Velazco et al., 2019).

As mudanças climáticas no futuro não são muito otimistas para a espécie, como observado em dados de modelagem de nicho (Barbosa et al., 2019) e de filogeografia (Braga, 2019), assim como revelado no presente estudo. O aumento da temperatura não deve causar a extinção de *S. adstringens* (Figura 15), entretanto o cenário RCP 4.5 apresenta um possível risco à sobrevivência da espécie em alguns locais. É importante destacar que a modelagem fornece apenas estimativas, entretanto, os modelos preditivos não indicam uma expansão da espécie ao longo do espaço geográfico, mas sim, reduzem as áreas de adequabilidade para a porção sudeste do Cerrado (Barbosa et al., 2019), que pode não fornecer as condições ideais para o estabelecimento da espécie. Dessa forma, as estratégias de conservação *in situ* devem ser prioridade e, quando não for possível, a conservação *ex situ* é uma ótima alternativa, caso as condições de cultivo sejam adequadas. Como destacado nesta tese, a maioria das subpopulações avaliadas não estão localizadas em áreas de proteção ambiental e algumas delas, inclusive, pertencem a regiões bastante degradadas pela agropecuária. Por isto, é necessário lançar mão de programas de conservação e melhoramento, a fim de garantir a manutenção da diversidade genética de *S. adstringens*.

Pensando em *S. adstringens* como uma espécie de interesse econômico e, portanto, um valioso recurso genético, é importante traçar estratégias eficientes para a conservação e uso desta espécie, pensando não somente na dinâmica evolutiva, mas também na interação ecológica desta com outras espécies. Como mencionado anteriormente, o barbatimão manifesta um baixo sucesso reprodutivo (Ortiz et al., 2003), além de sofrer alta incidência de ataques de insetos a suas sementes, comprometendo o estabelecimento dos indivíduos (Corrêa, 2007). Todas essas questões, em conjunto com as mudanças climáticas, devem ser levadas em consideração para que um programa de melhoramento logre êxito.

A produção de taninos é o alvo do setor econômico, principalmente visando o desenvolvimento de fitoterápicos. As concentrações desses polifenóis nas plantas são

diretamente relacionadas com temperatura e a precipitação (Santos et al., 2006; Corrêa et al., 2012; Zhang et al., 2019). Dessa forma, o aumento da incidência desses fatores ambientais pode afetar a produção dessas substâncias. Além disto, vale ressaltar que esses mesmos fatores são responsáveis pela perda de adequabilidade em algumas áreas de distribuição da espécie (Barbosa et al., 2019). Assim, as subpopulações localizadas na porção ocidental do Cerrado precisam de uma maior atenção no que concerne às medidas de conservação. Informações mais robustas poderão ser levantadas a partir da identificação de regiões gênicas e marcadores SNP (Polimorfismo de Nucleotídeo Único ou *Single Nucleotide Polimorphism*) que estejam relacionados à produção de metabólitos secundários em barbatimão (Souza, 2019). Abordagens como essa, aliadas a estudos de genética quantitativa, podem fornecer informações mais concretas sobre os efeitos da seleção natural sobre os caracteres adaptativos e, consequentemente, sobre aspectos evolutivos que não foram tratados neste estudo.

Iniciativas para conservação *ex situ* da espécie já foram tomadas (veja Corrêa et al., 2012), abrangendo regiões geográficas que não foram avaliadas nesta tese. Neste sentido, as subpopulações que foram apontadas como prioritárias para a conservação de *S. adstringens*, com exceção de CRIGO (que já possui exemplares na RPPN EcoCerrado), podem servir como uma complementação à variabilidade genética preservada nessa coleção de germoplasma, sendo indicadas para coleta de sementes e futura implementação. Adicionalmente, as subpopulações indicadas como prioritárias tais como TERGO, POSGO, MOSGO e CRIGO estão localizadas em áreas ameaçadas pelas mudanças climáticas, em regiões de perda de adequabilidade. Ademais, CHCGO se destacou com a maior frequência de alelos privados. Todas essas regiões indicadas, além de complementar a conservação *ex situ*, são importantes para implementação de conservação *in situ*. Além disto, BAMMG foi a única subpopulação de Minas Gerais a ser indicada como prioritária (Figura 16).

Como medidas de conservação são muito onerosas e nem sempre é possível garantir a conservação *in situ* de recursos genéticos, pode-se recorrer a um menor número de áreas a serem protegidas. Como TERGO encontra-se às margens do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, consequentemente está sendo conservada *in situ* e, portanto, não seria necessário coletar sementes dessa localidade para fins de conservação *ex situ*. Assim, sugere-se priorizar as subpopulações com maior número de alelos privados, tais como CHCGO, MOSGO e POSGO, a fim de garantir uma maior variabilidade genética na coleção de germoplasma já existente ou em futuras.

Em síntese, este estudo trouxe alguns esclarecimentos quanto à distribuição da diversidade genética em *S. adstringens*, tanto a nível histórico e, principalmente, em escala contemporânea. As subpopulações aqui avaliadas apresentaram alta estruturação genética que sofre influência de componentes geográficos e climáticos, bem como de fatores microevolutivos. Padrões semelhantes foram encontrados para outras espécies da mesma família e que se encontram no Cerrado, tais como baru (Collevatti et al., 2013) e jatobá-do-cerrado (Braga et al., 2019). Os padrões encontrados para essas espécies contam histórias importantes sobre o bioma, pois cada uma manifesta padrões de distribuição diferentes e, mesmo assim, tiveram respostas semelhantes no decorrer do tempo, provavelmente devido às mesmas pressões seletivas e efeitos de deriva genética e fragmentação da paisagem, que podem comprometer a persistência das espécies vegetais a longo prazo (Collevatti et al., 2013). Além disto, os níveis de diversidade genética e sua distribuição nas populações podem ser reconfigurados ou até mesmo haver perda de polimorfismos caso não sejam tomadas medidas eficientes para conservação e manejo, principalmente considerando as subpopulações que se encontram em regiões de baixa adequabilidade ambiental no futuro. Para tanto, foram sugeridas áreas importantes para coleta e conservação de germoplasma a curto e longo prazos, que serão ferramentas valiosas para o melhoramento genético da espécie e manejo mais eficiente, garantindo altos níveis de diversidade genética em *S. adstringens*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

i. As subpopulações de *S. adstringens* apresentam moderados valores de diversidade genética para os marcadores avaliados e alta estruturação entre subpopulações, com baixos índices de endogamia intrapopulacional;
ii. A espécie apresenta sistema misto de reprodução, com fecundação cruzada e propagação vegetativa;
iii. A presença de clones em algumas localidades pode ser indicativo de perturbação ambiental e consequente resiliência da espécie;
iv. O padrão espacial exerce influência significativa na diferenciação genética, indicando que as subpopulações estão evoluindo em um modelo de isolamento-por-distância;
v. Temperatura, precipitação e altitude são componentes que influenciam a distribuição da variabilidade genética, e consequente estruturação, em *S. adstringens*;
vi. Simulações indicam que pode haver mudanças na composição de grupos genético-ambientais em cenários pessimistas;
vii. As baixas taxas de fluxo gênico, na maioria dos pares de subpopulações, não são suficientes para neutralizar os efeitos da deriva genética;
viii. O tamanho efetivo das subpopulações é baixo, o que pode ser explicado por possíveis eventos de gargalo genético;
ix. Há uma barreira genética no Rio Araguaia isolando a subpopulação CHGMT das demais;
x. São indicadas seis subpopulações importantes para a conservação *in situ* de *S. adstringens*, que podem fornecer material suficiente para a complementação da diversidade genética conservada em coleções de germoplasma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMCZYK, B.; SIMON, J.; KITUNEN, V.; ADAMCZYK, S.; SMOLANDER, A. Tannins and Their Complex Interaction with Different Organic Nitrogen Compounds and Enzymes: Old Paradigms versus Recent Advances. **Chem. Open**, 6, pp. 610–614, 2017.

AGUIAR, J. G. F. **Diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Pterodon pubescens* Benth (Leguminosae) do Cerrado**. 2019. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2019.

AGUILAR, Q.; 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, pp. 5177-5188, 2008.

ALLENDORF, F. W. Genetics and the conservation of natural populations: Allozymes to genomes. **Molecular Ecology**, 26(2), 420–430, 2017. doi: 10.1111/mec.13948.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa - CPAC, 1998. 464p.

ALSOS, I. G.; EHRICH, D.; THUILLER, W.; EIDESEN, P. B.; TRIBSCH, A.; SCHÖNSWETTER, P.; … BROCHMANN, C. Genetic consequences of climate change for northern plants. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 279, pp. 2042–2051, 2012. doi: 10.1098/rspb.2011.2363.

ALVES, A. A. C.; AZEVEDO, V. C. R. Embrapa Network for Brazilian Plant Genetic Resources Conservation. **Biopreservation and Biobanking**, v. 16, n. 5, p. 350–360, 2018.

ANTIQUEIRA, L. M. O. R.; SOUZA, R. G. V. de C.; BAJAY, M. M.; KAGEYAMA, P. Y. Genetic structure and diversity of *Copaifera langsdorffii* Desf. in Cerrado fragments of the São Paulo State, Brazil. **Rev. Árvore**, v.38 nº 4, 2014. doi: 10.1590/S0100-67622014000400010.

ARAÚJO, E. D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO, J.; FOWLER, H. G. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. **Braz. J. Biol.**, v. 64(3B): pp. 563-568, 2004.

ARAVANOPOULOS, F. A. Genetic monitoring in natural perennial plant populations. **Botany-Botanique**, 89, pp. 75-81, 2011.

AUDI, E. A.; TOLEDO, D. P.; PERES, P. G.; KIMURA, E.; PEREIRA, W. K.; MELLO, J. C. de; NAKAMURA, C.; ALVES-DO-PRADO, W.; CUMAN, R. K.; BERSANI-

AMADO, C. A. Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats, **Phytother. Res.** 13, pp. 264–266, 1999.

BALDIVIA, D.S.; LEITE, D.F.; CASTRO, D.T.H. de; CAMPOS, J.F.; SANTOS, U.P. dos; PAREDES-GAMERO, E.J.; CAROLLO, C.A.; SILVA, D.B.; SOUZA, K.P.; SANTOS, E.L. dos. Evaluation of *in vitro* antioxidant and anticancer properties of the aqueous extract from the stem bark of *Stryphnodendron adstringens*, **Int. J. Mol. Sci.** 19(2432), 2018.

BARATELI, L. O. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão - Fabaceae)**. 2018. 59 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

BARBOSA, I. L. B. D.; OLIVEIRA, H. R.; TERRIBILE, L. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Geographical distribution of *Stryphnodendron adstringens* Mart . Coville (Fabaceae): modeling effects of climate change on past , present and future. **Brazilian Journal of Botany**, 2019.

BEERLI, P. **Migrate version 3.0**: a maximum likelihood and Bayesian estimator of gene flow using the coalescent. Disponível em: http://popgen.sc.fsu.edu/Migrate/Migrate-n.html. 2008.

BEERLI, P.; FELSENSTEIN, J. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v. 98: pp. 4563–4568, 2001.

BIVAND, R. *et al*. **Package *spdep*:** Spatial Dependence: Weighting Schemes, Statistics. 2019. Disponível em: < https://cran.r-project.org/web/packages/spdep/spdep.pdf >. Acesso em 4 Fev. 2020.

BIVAND, R. *et al*. **Package *splancs*:** Spatial and Space-Time Point Pattern Analysis. 2017. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/splancs/splancs.pdf>. Acesso em 4 Fev. 2020.

BORGES-FILHO, H. C.; FELFILI, J. M. Avaliação dos níveis de extrativismo das cascas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) no Distrito Federal, Brasil. **Rev Árvore** 27:735–745, 2003. doi: 10.1590/S0100-67622003000500016.

BRAGA, R. S. **Diversificação e radiação recente de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae) no cerrado: consequências genéticas frente às mudanças climáticas**. 2019. 101 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

BRAGA, R. S.; PINTO, R. B.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; SOARES, T. N.; COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C. Hierarchical genetic and spatial structure among varieties and populations of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae) in Brazilian savannah. **Tree Genetics & Genomes,** 15 **(**84), 2019. doi: 10.1007/s11295-019-1398-6.

BRANCO, E.A.; ZIMBACK, L.; LIMA, A.B.; MORI, E.S.; HIDEYO, A. **Estrutura Genética de populações de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)**. Disponível em : <https://smastr16.blob.core.windows.net/iflorestal/RIF/SerieRegistros/IFSR42/IFSR42.pdf ., pp. 31–37. 2010.

BRANDÃO, M. G. L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853), **J. Ethnopharmacol**. 143, pp. 488–500, 2012.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão)**. Brasília, 2014. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers–o-cp-Stryphnodendron.pdf>. Acesso em 10 Fev. 2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Convenção sobre a diversidade biológica – CDB (Cópia do Decreto Legislativo nº2, de 5 de junho de 1992. **Série biodiversidade**, nº1. Brasília: MMA/SBF, 2000. 32 p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_dpg/_arquivos/cdbport.pdf>. Acesso em 14 jan. 2020.

BRETTING, P. K.; DUVICK, D. N. Dynamic Conservation of Plant Genetic Resources. **Adv. Agron.** 61: pp. 1 -51, 1997. doi: 10.1016/S0065-2113(08)60661-6.

BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F. Biogeographic patterns, β-diversity and dominance in the cerrado biome of Brazil. **Biodiversity & Conservation**, v. 13, n. 12, p. 2295–2317, 2004.

BROOK, B. W.; SODHI, N. S.; BRADSHAW, C. J. A. Synergies among extinction drivers under global change. **Trends Ecol Evol** 23:453–460, 2008. doi: 10.1016/j.tree.2008.03.011.

BROOK, B.W.; TONKYN, D. W.; O'GRADY, J. J.; FRANKHAM, R. Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. **Conserv. Ecol.**, v. 6, 16, 2002.

BROQUET, T.; ANGELONE, S.; JAQUIERY, J.; JOLY, P.; LENA, J-P.; LENGAGNE, T.; PLENET, S.; LUQUET, E.; PERRIN, N. Genetic Bottlenecks Driven by Population Disconnection. **Conservation Biology**, v. 24: pp. 1596-1605 2010. doi: 10.1111/j.1523-1739.2010.01556.x

CARVALHO, A. G. et al. Use of tannin adhesive from *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville in the production of OSB panels. **European Journal of Wood and Wood Products**, v. 72, n. 4, p. 425–432, 2014.

CARVALHO, F. A.; JACOBSON, T. K. B.; COSTA, A. F.; SANTOS, A. A. B.; HAY, J. D. V. Estrutura e distribuição espacial do Barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum*) em uma área de cerrado no sudeste de Goiás. **Revista Trópica**, Chapadinha MA, v. 3, n. 1, p. 14-21, 2009.

CHEN, C.; DURAND, E.; FORBES, F.; FRANÇOIS, O. Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. **Mol Ecol Notes**, 7: pp. 747–756, 2007. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01769.x.

CHYBICKI, I.J.; BURCZYK, J. Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. **J Hered**. v. 100: pp.106–113. 2009. doi.org/10.1093/jhered/esn088.

COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C.; NABOUT, J. C.; CHAVES, L. J.; SOARES, T. N. Demographic history and the low genetic diversity in *Dipteryx alata* (Fabaceae) from Brazilian Neotropical savannas. **Heredity**, v. 111, n. 2, p. 97–105, 2013.

CORANDER, J.; SIRÉN, J.; ARJAS, E. Spatial modelling of genetic population structure. **Computational Statistics**, 23, pp. 111-129, 2008.

CORRÊA, V. S. C. **Conservação de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em banco ativo de germoplasma**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, 2007.

CORRÊA, V. S. C.; CERDEIRA, A. L.; FACHIN, A. L.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; MOMM, H. G.; MORAES, R. M.; PEREIRA, A. M S. Geographical variation and quality assessment of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville within Brazil. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 59, 1349–1356, 2012. doi: 10.1007/s10722-011-9761-y

COULON, A.; GUILLOT, G.; COSSON, J-F.; ANGIBAULT, J.; AULAGNIER, S.; CARGNELUTTI, B. *et al*. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. **Mol Ecol** 15: pp. 1669-1679, 2006.

CRUZ, C. D; FERREIRA, F. M; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620p.

CRUZ, M. V.; RODRIGUES, J. G.; SOUZA, H. A. V.; LOVATO, M. B. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Plathymenia reticulata* (Fabaceae). **American Journal of Botany**: pp. 210-212, 2012. doi:10.3732/ajb.1100511.

DIAS NETO, O. C.; LOPES, S. F.; OLIVEIRA, A. P.; VALE, V. S.; GUSSON, A. E.; SCHIAVINI, I. Estrutura de duas espécies vegetais de cerrado em área queimada e não queimada, Caldas Novas, GO. *In*: Simp. Nac. Cerrado, 9.; Simp. Internac. Savanas Tropicais, 2., 2008, Brasília, **Anais...** Brasília: UnB, 2008. p. 1-8. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/publico/simposio/trabalhos/00182_trab1_ap.pdf>. Acesso em 10 Fev. 2020.

DINIZ, V. S. S.; FRANCESCHINELLI, E. V. Estrutura populacional e brotamento de três espécies nativas do Cerrado em diferentes regimes de queimadas. **Rev. Biol. Neotrop.**, v.11(2): pp. 107-115, 2014.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; NABOUT, J. C.; TELLES, M. P. C.; SOARES, T. N.; RANGEL, T. F. L. V. B. A review of techniques for spatial modeling in geographical, conservation and landscape genetics. **Genetics and Molecular Biology,** v. 32, n. 2, p. 203-211, 2009.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; SOARES, T. N.; LIMA, J. S.; DOBROVOLSKI, R.; LANDEIRO, V. L.; TELLES, M. P. C.; RANGEL, T. F.; BINI, L. M. Mantel test in population genetics. **Genetics and Molecular Biology,** v. 36, n. 4, p. 475-485, 2013.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C.; BONATTO , S. L.; EIZIRIK, E.; FREITAS, T. R. O.; DE MARCO JÚNIOR.; SANTOS, F. R.; SOLE-CAVA, A.; SOARES, T. N. Mapping the evolutionary twilight zone: molecular markers, populations and geography. **Journal of Biogeography**, v. 35, p. 753–763, 2008.

DINIZ-FILHO, J.A.F.; DINIZ, J.V.B.P.L.; TELLES, M.P.C. Exhaustive search for conservation networks of populations representing genetic diversity. **Genet. Mol. Res**. v.15(1), 2016. doi: 10.4238/gmr.15017525.

DIWAN, N.; CREGAN, P. B. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. **Theor Appl Genet**, v. 95: pp. 723-733, 1997.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.

DRAY, S. *et al*. **Package *ade4*:** Analysis of Ecological Data: Exploratory and Euclidean Methods in Environmental Sciences. 2013. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/ade4/index.html>. Acesso em 4 Fev. 2020.

DURAND, E.; JAY, F.; GAGGIOTTI, O. E.; FRANÇOIS, O. Spatial inference of admixture proportions and secondary contact zones. Molecular Biology and Evolution, 26, 1963 -1973, 2009.

DYER, R. Population graphs and landscape genetics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 46, pp. 327-342, 2015.

ENNOS, R.A. Inferences about spatial processes in plant populations from the analysis of molecular markers. (2001) In: SILVERTOWN, J.; ANTONOVICS, J. (Eds.) **Integrating Ecology and Evolution in a Spatial Context: 14th Special Symposium of the British Ecological Society**, Cap. 3, pp. 45-72.

ERIKSSON, O. Dynamics of genes in clonal plants. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v.8, p. 313-316, 1993.

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

EXCOFFIER, L. Analysis of Population Subdivision. (2007) In: BALDING, D. J.; BISHOP, M.; CANNINGS, C. (Eds.) **Handbook of Statistical Genetics**, Third Edition. Cap. 29, pp. 980-1020, 2007.

EXCOFFIER, L.; LAVAL G.; SCHNEIDER S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47-50, 2005.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin software ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.

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

FELFILI, J. M.; FILGUEIRAS; SILVA JÚNIOR, M. C.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Comparison of Cerrado (*sensu stricto*) vegetation in central Brazil. **Ciência e Cultura** 50 (4): pp. 237-243, 1998.

FELFILI, J. M.; SILVA-JUNIOR, M. C.; DIAS, B. J.; REZENDE, A. V. Estudo fenológico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart. Coville no cerrado sensu stricto da Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 1, p. 1–10, 1999.

FELFILI, J.M.; BORGES-FILHO, H.C. **Extrativismo racional da casca do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]**. Brasília: Universidade de Brasília, 2004. 32 p.

FERES, J. M. **Diversidade genética, fluxo gênico e sistema de cruzamento de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan e *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg: Duas espécies que ocorrem em alta densidade no interior do estado de São Paulo**. 2013. 163 f. Tese (Doutorado em Ciências – Genética) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3 ed. Brasília-DF: Embrapa, 1998.

FIEDLER, N.C.; AZEVEDO, I.N.C.; REZENDE, A.V., MEDEIROS, M.B.; VENTUROILI, F. Efeito de incêndios florestais na estrutura e composição florística de uma área de cerrado *sensu stricto* na fazenda Água Limpa-DF. **Revista Árvore**, 28(1), 129-138, 2004.

FIRETTI, F. **Biologia reprodutiva e polinização de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae – Mimosoideae)**. 2001. 89 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília, Brasília, 2001.

FISCHER, J; LINDENMAYER, D.B. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. **Glob Ecol Biogeogr.**, 16: pp. 265–280, 2007.

FLORA DO BRASIL 2020. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em: 04 Fev. 2020.

FORZZA, R. C. (Org.), *et al*. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Catálogo de plantas e fungos do Brasil Rio de Janeiro. (2010). **Introdução: síntese da diversidade brasileira**, p. 19-42. Vol. 1. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/z3529/pdf/forzza-9788560035083-04.pdf>. Acesso em 04 Fev. 2020.

FRANKEL, O.H.; BROWN, A.H.D; BURDON, J.J. 1995. **Conservation of plant biodiversity**. Cambridge University Press. Reino Unido. 299p.

FRANKHAM, R. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. **Biological Conservation**, Volume 143 (9), pp. 1919-1927, 2010. doi: 10.1016/j.biocon.2010.05.011.

FRANKHAM, R.; BRADSHAW, C. J.; BROOK, B. W. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. **Biological Conservation**, v. 170: pp. 56-63, 2014.

FUJIKI, H.; SUEOKA, E.; RAWANGKAN, A.; SUGANUMA, M. Human cancer stem cells are a target for cancer prevention using (-)-epigallocatechin gallate, J. **Cancer Res. Clin. Oncol.** 143, pp. 2401–2412, 2017.

GABRIEL, K. R.; SOKAL, R. R. A New Statistical Approach to Geographic Variation Analysis. **Systematic Biology**, v. 18, n. 3, p. 259-278, 1969.

GARDINER, L. M.; RAKOTOARINIVO, M.; RAJAOVELONA, L. R.; CLUBBE, C. Population genetics data help to guide the conservation of palm species with small population sizes and fragmented habitats in Madagascar. **PeerJ**, v. 5:e3248, 2017. doi: 10.7717/peerj.3248

GARDNER, C.J.; STRUEBIG, M.J.; DAVIES, Z.G. Conservation must capitalise on climate's moment. **Nature Communications** 11, 109, 2020. doi: 10.1038/s41467-019-13964-y.

GARNER, B. A.; HAND, B. K.; AMISH, S. J.; BERNATCHEZ, L.; FOSTER, J. T.; MILLER, K. M.; … LUIKART, G. Genomics in conservation: Case studies and bridging the gap between data and application. **Trends in Ecology & Evolution**, *31*(2), pp. 81–83, 2016. doi: 10.1016/j.tree.2015.10.009

GARZA J.C.; WILLIAMSON, E.G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. **Mol Ecol**. v. 10: pp. 305–318. 2001. doi: 10.1046/j.1365-294X.2001.01190.x.

GATHMANN, A.; TSCHARNTKE, T. Foraging ranges of solitary bees. **Journal of Animal Ecology**, v. 71: pp. 757-764, 2002.

GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L.P.; WANDERLEY, M.G.L.; VAN DEN BERG, C. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade** 1: pp. 52-61, 2005. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/BIOD_ConservacaoID-eWNPNpKEJw.pdf>. Acesso em: 4 Fev. 2020.

GLASENAPP, J. S.; CASALI, V. W. D.; MARTONS, E. R.; CRUZ, C. D.; BARBOSA, P. D. Descrição da diversidade genética de populações naturais de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em unidades de conservação de Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 38, n. 1, p. 103–112, 2014.

GOEDERT, C. O.; WETZEL, M. M. V. S. Sistema de curadorias de germoplasma e o programa de conservação e uso de recursos genéticos do sistema Embrapa. In: NASS, L. L.

(Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 25-60, 2007.

GOUDET, J., 2003. Fstat (version 2.9.4), a program to estimate and test population genetics parameters. Disponível em: <http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html> .

GRAUDAL, L.; ARAVANOPOULOS, F.; BENNADJI, Z.; CHANGTRAGOON, S.; FADY, B.; KJÆR, E.D. *et al.* Global to local genetic diversity indicators of evolutionary potential in tree species within and outside forests. **Forest Ecology and Management** 333, pp. 35 – 51, 2014. doi: 10.1016/j.foreco.2014.05.002.

GRECCHI, R. C.; GWYN, Q. H. J.; BÉNIÉ, G. B. et al. Land use and land cover changes in the Brazilian Cerrado: a multidisciplinary approach to assess the impacts of agricultural expansion. **Appl Geogr** 55:300–312, 2014. doi: 10.1016/j.apgeog.2014.09.014

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

HAASL, R.; PAYSEUR, B. Multi-locus inference of population structure: a comparison between single nucleotide polymorphisms and microsatellites. **Heredity** 106: pp. 158-171, 2011.

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, p. 618-620, 2002.

HEMINGWAY, J. D.; HILTON, R. G.; HOVIUS, N.; EGLINTON, T. I.; HAGHIPOUR, N.; WACKER, L.; … GALY, V. V. Microbial oxidation of lithospheric organic carbon in rapidly eroding tropical mountain soils. **Science**, 360(6385), pp. 209-212, 2018. doi: 10.1126/science.aao6463.

HENRIQUES, B. O.; CORRÊA, O.; AZEVEDO, E. P. C.; PÁDUA, R. M.; OLIVEIRA, V. L. S. de; OLIVEIRA, T. H. C.; BOFF, D.; DIAS, A. C. F.; SOUZA, D. G. de; AMARAL, F. A.; TEIXEIRA, M. M.; CASTILHO, R. O.; BRAGA, F. C. *In Vitro* TNF- α Inhibitory Activity of Brazilian Plants and Anti-Inflammatory Effect of *Stryphnodendron adstringens* in an Acute Arthritis Model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, p. 1-15, 2016.

HENRY, R. J. Plant conservation genetics: Importance, options, and opportunities. In: HENRY, R. J. (Ed.) **Plant conservation genetics**. The Haworth Press, New York, pp. 1-6, 2006.

HEY, J.; MACHADO, C. A. The study of structured populations - new hope for a difficult and divided science. **Nature Reviews Genetics**, 4, pp.535-543, 2003.

HEYWOOD, V. Overview of agricultural biodiversity and its contribution to nutrition and health, In: FANZO, J.; HUNTER, D.; BORELLI, T.; MATTEI, F. (Eds) **Diversifying Food and Diets**: Using Agricultural Biodiversity to Improve Nutrition and Health. Issues in Agricultural Biodiversity, Earthscan, UK, 2013.

HINDLEY, J.A., GRAHAM, B.A., PULGARIN-R., P.C. *et al.* The influence of latitude, geographic distance, and habitat discontinuities on genetic variation in a high latitude montane species. **Scientific Reports**, 8, 11846, 2018. doi: 10.1038/s41598-018-29982-7.

HOBAN, S. M.; ARNTZEN, J. A.; BRUFORD, M. W.; GODOY, J. A.; HOELZEL, A. R.; SEGELBACHER, G.; … BERTORELLE, G. Comparative evaluation of potential indicators and temporal sampling protocols for monitoring genetic erosion. **Evolutionary Applications**, 7(9), pp. 984-998, 2014. doi: 10.1111/eva.12197

HOFFMANN, W.A.; SOLBRIG, O.T. The role of topkill in the differential response of savanna woody species to fire. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.6172, p.1-14, 2003.

HOLDEREGGER R.; WAGNER, H.H. Landscape genetics. **Bioscience**, 58: pp. 199–207, 2008.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. 2012. **Produção Agrícola Municipal e Censu da População**. SIDRA. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Acervo#/S/Q>. Acesso em: 29 Jan. 2020.

ISHIDA, K.; ROZENTAL, S.; MELLO, J. C. P. de; NAKAMURA, C. V. Activity of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on *Cryptococcus neoformans*: effects on growth, capsule size and pigmentation, **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob**. 8, 29, 2009.

JAY, F.; FRANÇOIS, O; DURAND, E. Y.; BLUM, M. G. B. PoPS : A Software for Prediction of Population Genetic Structure Using Latent Regression Models. **Journal of Statistical Software**, v. 68, n. 9, p. 1–19, 2015.

JIANG, S.; LUO, M-X.; GAO, R-H.; ZHANG, W.; YANG, Y-Z.; LI, Y-J.; LIAO, P-C. Isolation-by-environment as a driver of genetic differentiation among populations of the only broad-leaved evergreen shrub *Ammopiptanthus mongolicus* in Asian temperate deserts. **Nature: Scientific Reports**, v. 9: 12008, 2019. doi: 10.1038/s41598-019-48472-y.

JOMBART T.; DEVILLARD, S.; BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC Genetics** 11: 94, 2010.

JOMBART, T. *Adegenet*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics**. Jun 1; 24(11): 1403-5. 2008. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129.

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; DUFOUR, A.; PONTIER, D. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. **Heredity** (Edinb) 101: pp. 92-103, 2008. doi: 10.1038/hdy.2008.34.

JOMBART, T.; PONTIER, D.; DUFOUR, A. B. Genetic markers in the playground of multivariate analysis. **Heredity,** 102(4): pp. 330-41, 2009. doi: 10.1038/hdy.2008.130.

JUMP, A.S.; MARCHANT, R.; PEÑUELAS, J. Environmental change and the option value of genetic diversity. **Trends in Plant Science**. Vol.14 Nº.1., 2009. doi: 10.1016/j.tplants.2008.10.002

KALINOWSKI, S. T. HP-RARE 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. **Molecular Ecology Notes**, 5, pp.187 – 189, 2005.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising howcomputer program Cervus accommodates genotyping error increase success in paternity assignment. **Mol. Ecol**. 16:1099–1106, 2007.

KAPLUM, V.; RAMOS, A. C.; CONSOLARO, M. E. L.; FERNANDEZ, M. A.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B. P.; SILVA, S. O.; MELLO, J. C. P. de; NAKAMURA, C.V. Proanthocyanidin polymer-rich fraction of *Stryphnodendron adstringens* promotes *in vitro* and *in vivo* cancer cell death via oxidative stress, **Front. Pharmacol**. 9 (694), 2018.

KIVELÄ, M.; ARNAUD-HAOND, S.; SARAMÄKI, J. **EDENetworks**: Ecological and Evolutionary Networks. (EDENetworks manual 2.18). Ffev. 2014, 44 p.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005

KRAMER, A. T.; HAVENS, K. Plant conservation genetics in a changing world. **Trends in Plant Science**, Vol.14 Nº.11, 2009.

KRAMER, A.T.; ISON, J. L.; ASHLEY, M. V.; HOWE, H. F. The paradox of forest fragmentation genetics. **Conserv. Biol.**, v. 22, pp. 878–885, 2008.

KUHNER, M.K. Coalescent genealogy samplers: windows into population history. **Trends Ecol Evol.** Feb; 24(2): 86-93. 2009. doi: 10.1016/j.tree.2008.09.007.

LATCH, E.; DHARMARAJAN, G.; GLAUBITZ, J.; RHODES O. Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation. **Conservation Genetics**, 7, pp. 295-302, 2006.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Numerical Ecology**, 3ª edição. Elsevier, Amsterdam, 2012.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data.** 2002. Disponível em: <http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>. Acesso em: 14 out. 2019.

LI, Y.L.; LIU, J.X. *StructureSelector*: A web based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. **Molecular Ecology Resources**, 18:176–177, 2018.

LIMA, A. B. de. **Estrutura genética de populações de *Stryphnodendron adstringens* (MART.) COVILLE (Barbatimão)**. 2010. 53 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/106667>. Acesso em 19 Nov. 2019.

LIMA, N. E. **Distribuição da variação genética e história demográfica da Macaúba (*Acrocomia* spp.: Arecaceae)**. 2016. 222 f. Tese (Doutorado em Ciências; Área de Concentração em Genética) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

LIMA, T. C. D. de; CARDOSO, M. V.; MODESTO, T.; OLIVEIRA, A. L. de B.; SILVA, M. N. da; MONTEIRO, M. C. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Fitos**, Vol. 10 (3), pp. 220-372, 2016. doi: 10.5935/2446-4775.20160025.

LIMA-RIBEIRO, M. S.; VARELA, S.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, J.; OLIVEIRA, G.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; TERRIBILE, L. C. *EcoClimate*: a database of climate data from multiple models for past, present, and future for Macroecologists and Biogeographers. **Biodiversity Informatics,** v. 10, p. 1-21, 2015.

LINS-NETO, M.A.F.; CAETANO, L.C.; PEIXOTO NETO, P.A.S.; SILVA, Z.P. Pharmaceutical composition using *Stryphnodendron* extracts for treating HPV Infections. **U.S. Patent 9023405 B2**, 5 May 2015.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras:** Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, 2nd ed.; Instituto Plantarum: Nova Odessa, Brazil, 2000; 384 p., ISBN 978-85-8671-450-4.

LOWE, W. H.; KOVACH, R. P.; ALLENDORF, F. W. Population Genetics and Demography Unite Ecology and Evolution. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 32: pp. 141–152, 2017.

LPWG. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66, n. February, p. 44–77, 2017.

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.

MANNI, F.; GUÉRARD, E. **Barrier v. 2. 2. Manual of the user**. Population genetics team, Museum of Mankind (Musée de l'Homme), Paris. 2004a.

MANNI, F.; GUÉRARD, E.; HEYER, E. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by "Monmonier's algorithm". **Human Biology**, v. 76, n. 2, p. 173-190, 2004b.

MANTEL, N. Detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, v. 27, n. 2P1, p. 209-220, 1967.

MARTINS, D. T.; LIMA, J. C.; RAO, V. S. The acetone soluble fraction from bark extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) coville inhibits gastric acid secretion and experimental gastric ulceration in rats, **Phytother. Res.** 16, pp. 427–431, 2002.

MARTINS, I., MACEDO, D. R., HUGHES, R. M., & CALLISTO, M. Are multiple multimetric indices effective for assessing ecological condition in tropical basins? **Ecological Indicators**, 110, 105953, 2020. doi: 10.1016/j.ecolind.2019.105953

MARTINS, K.; SANTOS, J. D.; GAIOTTO, F. A.; MORENO, M. A.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae – Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, V.31, n.1, pp.61-69, 2008.

MEIRA, M. R.; CABACINHA, C. D.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Barbatimão: Ecologia, produção de tanino e potencial socioeconômico na Região Norte mineira. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; pp. 466-494, 2013.

MEIRA, M. R.; CABACINHA, C. D.; GAMA, A. T. da; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L. S. de. Caracterização estrutural do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) no Cerrado do norte de Minas Gerais, **Ciência Florestal**, vol. 26, n. 2, pp. 627-638, 2016.

MELO, J.T.; SILVA, J.A.; TORRES, R.A.A.; SILVEIRA, C.E.S.; CALDAS, L.S. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa – CPAC, p. 195-211, 1998.

MENDONÇA, P. C.; BERTONI, B. W.; AMUI, S. F.; GIULIATTI, S.; CORRÊA, V. S. C.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville determined by AFLP molecular markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 16–20, 2012.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA-JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; FAGG, C. W. Flora Vascular do Bioma Cerrado: *checklist* com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: Ecologia e Flora.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 2, cap. 15, 2008, p.422-442.

MILLIGAN, B. G. Probabilistic graph models for landscape genetics. **PeerJ Preprints**, 5, 2017. doi. 10.7287/peerj.preprints.2225v5.

MILLIGAN, B. G.; ARCHER, F. I.; FERCHAUD, A.; HAND, B. K.; KIEREPKA, E. M.; WAPLES, R. S. Disentangling genetic structure for genetic monitoring of complex populations. **Evolutionary Applications**, 2018. doi: 10.1111/eva.12622.

MIRANDA, A. A. N.C. **Estrutura genética espacial intrapopulacional em *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão Fabaceae)**. 2020. 53 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.

MITTERMEIER, R.A.; ROBLES-GIL, P.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G.A.B. Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. **EMEX**/ Agrupación Sierra Madre, Mexico City. 392p., 2004.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. Plano de Ação para Prevenção e Controle do Desmatamento e das Queimadas no Cerrado – **PP Cerrado**. Brasília, 2009.

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

MORAES, C.D.A. **Resposta de algumas espécies arbóreas nativas do cerrado a adubação e calagem**. 1994. 75f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília. Brasília, 1994.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000. doi: 10.1038/35002501.

NARUM, S. R.; BUERKLE, C. A.; DAVEY, J. W.; MILLER, M. R.; HOHENLOHE, P. A. Genotyping-by-sequencing in ecological and conservation genomics. **Molecular Ecology**, 22(11), pp. 2841–2847, 2013. doi: 10.1111/mec.12350.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 70, pp. 3321–3323, 1973.

NETO, J. A. R, TARÔCO, B. R. P, SANTOS, H. B. dos, THOMÉ, R. G., WOLFRAM, E.; RIBEIRO, R. I. M. de A. Using the plants of Brazilian Cerrado for wound healing: From traditional use to scientific approach. **Journal of Ethnopharmacology**, 112547, 2020. doi: 10.1016/j.jep.2020.112547.

NÓBREGA, R. L. B; ZIEMBOWICZA, T; TORRES, G. N.; GUZHA, A. C.; AMORIM, R. S. S.; CARDOSO, D.; JOHNSON, M.S.; SANTOS, T.G.; COUTO, E.; GEROLD, G. Ecosystem services of a functionally diverse riparian zone in the Amazone-Cerrado agricultural frontier. **Global Ecology and Conservation** 21 – 008192, 2020. doi: 10.1016/j.gecco.2019.e00819.

NOVAES, P.; MOLINILLO, J. M. J.; VARELA, R. M.; MACÍAS, F. A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry Reviews,** v. 12, n. 4, p. 839-855, 2013.

ODEN, N.; SOKAL, R.R. Directional autocorrelation: an extension of spatial correlograms to two dimensions. **Systematic Zoology**, v. 35, p. 608–617, 1986.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; WAGNER, H.H.; et al. **Package *Vegan***: Community Ecology Package. Ordination methods, diversity analysis and other functions for community and vegetation ecologists. Version 2.5-1. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. 2019.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, 2, pp. 294-307, 2006.

OLIVEIRA, P. E. A.M. **The Pollination and Reproductive Biology of a Cerrado Woody Community in Brazil**. 1991. 244f. Tese (Doctor of Philosophy) - University of St. Andrews, 1991.

ORSINI, L.; VANOVERBEKE, J.; SWILLEN, I.; MERGEAY, J.; DE MEESTER, L. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation,

isolation by adaptation and isolation by colonization. **Molecular Ecology**, v. 22: pp. 5983-5999, 2013. doi: 10.1111/mec.12561.

ORTIZ, P. L.; ARISTA, M.; OLIVEIRA, P. E.; TALAVERA, S. Pattern of Flower and Fruit Production in *Stryphnodendron adstringens*, an Andromonoecious Legume Tree of Central Brazil. **Plant Biology**, v. 5, p. 592–599, 2003.

PALIY, O.; SHANKAR, V. Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology. **Mol Ecol** 25 (5), 2016.

PARADIS, E., & SCHLIEP, K. *ape* 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. **Bioinformatics**. 2018. doi:10.1093/bioinformatics/bty633

PEERY, M.Z.; KIRBY, R.; REID, B.N.; et al. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. **Mol Ecol**. v. 21: pp. 3403–3418. 2012. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05635.x.

PELLENZ, N.L.; BARBISAN, F.; AZZOLIN, V. F.; MARQUES, L. P. S.; MASTELLA, M. H.; TEIXEIRA, C. F.; RIBEIRO, E. E.; CRUZ, I. B. M. da. Healing activity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.), a Brazilian tannin-rich species: A review of the literature and a case series. **Wound Medicine** 26 (100163), 2019.

PILON, N. A. L.; UDULUTSCH, R. G.; DURIGAN, G. Padrões fenológicos de 111 espécies de Cerrado em condições de cultivo. **Hoehnea** 42(3): 425-443, 2015. doi: 10.1590/2236-8906-07/2015.

PINHO, L. de; SOUZA, P. N. S.; SOBRINHO, E. M.; ALMEIDA, A. C. de; MARTINS, E. R. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree, barbatimão and erva baleeira leaves and from pequi peel meal, **Cienc. Rural** 42, pp. 326–331, 2012.

PRANCE, G. T. Strategies for *in situ* conservation. In: HENRY, R. J. (Ed.) **Plant conservation genetics**. The Haworth Press, New York, 2006, pp. 105-116.

PRIMO, B. L. Riqueza tanífera de alguns produtos vegetais brasileiros. **An. Assoc. Quim. Bras**. 4(2), pp. 117-120, 1945.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000.

PUECHMAILLE, S. J. The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. Molecular Ecology Resources, 16: pp. 608-627, 2016. doi: 10.1111/1755-0998.12512

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 15 Jan. 2020.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; XIE, D.; BAELE, G.; SUCHARD, M. A. Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. **Systematic Biology**, v. 67, n. 5, p. 901–904, 2018.

RHODES JR.; O. E.; CHESSER, R.K. Genetic concepts for habitat conservation: the transfer and maintenance of genetic variation. **Landscape and Urban Planning**, Vol. 28 (1), 1994, pp. 55-62. doi: 0.1016/0169-2046(94)90043-4.

RIBEIRO, J. F.; OLIVEIRA, M. C.; GULIAS, A. P. S. M.; FAGG, J. M. F.; AQUINO, F. G. Usos múltiplos da biodiversidade no bioma cerrado: estratégia sustentável para a sociedade, o agronegócio e os recursos naturais. *In*: FALEIRO, F. G.; FARIA NETO, A. L. (Ed.). **Savanas:** desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Planaltina: Embrapa Cerrados; Brasília: Embrapa Informação Tecnológico, 2008. p. 337-360.

RIBEIRO, R. M.; TESSAROLO, G.; SOARES, T. N.; TEIXEIRA, I. R.; NABOUT, J. C. Global warming decreases the morphological traits of germination and environmental suitability of *Dipteryx alata* (Fabaceae) in Brazilian Cerrado. **Acta Botanica Brasilica** - 33(3): pp. 446-453, 2019. doi: 10.1590/0102-33062018abb0288.

RIZZINI, C. T.; HERINGER, E. P. Estudo sobre os Sistemas Subterrâneos Difusos de Plantas Campestres. **An. da Academia Brasileira de Ciências**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ, 1966.

ROSAS, F.; QUESADA, M.; LOBO, J. A.; SORK, V. L. Effects of habitat fragmentation on pollen flow and genetic diversity of the endangered tropical tree *Swietenia humilis* (Meliaceae). **Biological Conservation**, v. 144, pp. 3082–3088, 2011. doi:10.1016/j.biocon.2011.10.003

SABINO, A. P. L.; EUSTÁQUIO, L. M. S.; MIRANDA, A. C. F.; BIOJONE, C.; MARIOSA, T. N.; GOUVÊA, C. M. C. P. *Stryphnodendron adstringens* ("Barbatimão") leaf fraction: chemical characterization, antioxidant activity, and cytotoxicity towards human breast cancer cell lines. **Appl. Biochem. Biotechnol**. 184, pp. 1375–1389, 2018.

SANTOS, E. C. X. R.; CARVALHO, R.; ALMEIDA, E. M.; FELIX, L. P. Chromosome number variation and evolution in Neotropical Leguminoseae (Mimosoideae) from northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 2451–2475, 2012.

SANTOS, S. C.; COSTA, W. F.; BATISTA, F.; SANTOS, L. R.; FERRI, P. H.; FERREIRA, H. D.; SERAPHIN, J. C. Seasonal variation in the content of tannins in barks of barbatimão species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 552–556, 2006.

SANTOS, V. R.; GOMES, R. T.; OLIVEIRA, R. R.; CORTÉS, M. E.; BRANDÃO, M. G. L. Susceptibility of oral pathogenic microorganisms to aqueous and ethanolic extracts of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão), **Int. J. Dent**. 8, pp.1–5, 2009.

SAVOLAINEN, O.; PYHÄJÄRVI, T.; KNÜRR, T. Gene flow and local adaptation in trees. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst**., v. 38, pp. 595-619, 2007. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095646.

SCALON, V.R. **Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae).** 2007. 273 f. Tese (Doutorado em Ciências: Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SCALON, V.R. 2015. ***Stryphnodendron* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB19133>. Acesso em: 14 Nov. 2019.

SCARIOT, A.; FELFILI, J.M.; SOUSA-SILVA, J.C. Brasília, Brasil: **Ministério do Meio Ambiente**, 2005.

SEGELBACHER, G.; CUSHMAN, S. A.; EPPERSON, B.K.; FORTIN, M.J.; FRANÇOIS, O.; HARDY, O.J.; HOLDEREGGER, R.; TABERLET, P.; WAITS, L.P.; MANEL, S. Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. **Conservation Genetics**, 11: pp. 375–385, 2010.

SEXTON, J. P.; HANGARTNER, S. B.; HOFFMANN, A. A. Genetic Isolation by Environment or Distance: which pattern of gene flow is most common? Evolution, v. 68-1: pp. 1-15, 2013. doi:10.1111/evo.12258.

SILVA, J. F.; FARINAS, M. R..; FELFILI, J. M.; KLINK, C. A. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the Cerrado region of Brazil. **J Biogeogr** 33: pp. 536 -548, 2006.

SILVA, J. S. **Padrões fenológicos no Distrito Federal: congruência entre dados de herbário e estudos em campo**. 2014, 205 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de Brasília, 2014.

SILVA, L.O.; COSTA, D.A.; SANTO FILHO, K.E.; FERREIRA, H. D.; BRANDÃO, D. Levantamento florístico e fitossociológico em duas áreas de cerrado *sensu stricto* no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, 16(2), 43-53, 2002.

SILVERTOWN, J. The evolutionary maintenance of sexual reproduction: evidence from the ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 169, n. 1, p.157–168, 2008.

SIMON, M. F.; PASTORE, J. F. B.; SOUZA, A. F.; BORGES, L. M.; SCALON, V. R.; RIBEIRO, P. G.; SANTOS-SILVA, J.; SOUZA, V. C.; QUEIROZ, L. P. Molecular phylogeny of *Stryphnodendron* (Mimosoideae, Leguminosae) and generic delimitations in the Piptadenia group. **International Journal Plant Sciences**, v. 177, n. 1, p. 44–59, 2016.

SIQUEIRA, M. F. de; PETERSON, A. T. Consequences of global climate change for geographic distributions of cerrado tree species. **Biota Neotropica**, 3(2), 1-14, 2003. doi: 10.1590/S1676-06032003000200005.

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

SOARES, K. O. **Comportamento Forrageiro de *Trigona spinipes***. 2016. 45 f. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2016.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Bot. Bras**., v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.
SOUZA, E. M. S.; PEREIRA, G. S.; SILVA-MANN, R.; ÁLVARES-CARVALHO, S. V.; FERREIRA, R. A. A comparative framework of the *Erythrina velutina* tree species in reforested land and native populations. **Genetics and Molecular Research**, v. 15 (2), 2016. doi: 10.4238/gmr.15028534.

SOUZA, H. A. V.; COLLEVATTI, R. G.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; LEMOS-FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. A large historical refugium explains spatial patterns of genetic diversity in a Neotropical savanna tree species. **Annals of Botany**, v.119: pp. 239–252, 2017. doi: doi:10.1093/aob/mcw096.

SOUZA, U. J B. **Caracterização parcial e tamanho do genoma de *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae).** 2019. 117 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

SOUZA, U. J. B. d; NUNES, R.; TARGUETA, C.P. et al. The complete chloroplast genome of *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae - Caesalpinioideae): comparative analysis with related Mimosoid species. **Scientific Reports** 9, 14206, 2019. doi: 10.1038/s41598-019-50620-3.

SOUZA, V.C.; LIMA, A. G. *Stryphnodendron in* **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB19133>. Acesso em: 4 Fev. 2020

SOUZA-MOREIRA, T. M.; QUEIROZ-FERNANDES, G. M.; PIETRO, R. C. L. R. *Stryphnodendron* Species Known as "Barbatimão": A Comprehensive Report. **Molecules**, v. 23, p. 1–25, 2018.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SEVERI, J.A.; SILVA, V.Y.A..; SANTOS, E. Bioprospection of antioxidante and antimicrobial activities in the bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae), **J. Basic. Appl. Pharm. Sci**., 28: pp. 221–226, 2007.

SPIEGELHALTER, D. J.; BEST, N.G.; CARLIN, B.P.; VAN DER LINDE, A. Bayesian measures of model complexity and fit. **J Roy Stat Soc B**, 64: pp. 583-639, 2002.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends Ecol Evol** 15: pp. 199-203, 2000.

SUZUKI, R.; SHIMODAIRA, H. *Pvclust*: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. **Bioinformatics**. Jun 15; 22 (12):1540-2, 2006.

TALLMON, D. A.; GREGOVICH, D.; WAPLES, R. S.; BAKER, C. S.; JACKSON, J.; TAYLOR, B. L.; … SCHWARTZ, M. K. When are genetic methods useful for estimating contemporary abundance and detecting population trends? **Molecular Ecology Resources**, 10, pp. 684-692, 2010.

TELLES, M. P. C.; DOBROVOLSKI, R.; SOUZA, K. S.; LIMA, J. S.; COLLEVATTI, R. G.; SOARES, T. N.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Disentangling landscape effects on population genetic structure of a Neotropical savanna tree. **Natureza & Conservacao**, v. 12, n. 1, p. 65-70, 2014.

VAN DYCK, H.; BAGUETTE, M. Dispersal behaviour in fragmented landscapes: routine or special movements? **Basic Appl Ecol.**, 6: pp. 535–545, 2005.

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.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends in Biotechnology**, v.23, n.1, p.48-55, 2005.

VELAZCO, S. J. E.; VILLALOBOS, F.; GALVÃO, F.; MARCO-JÚNIOR, P. A dark scenario for Cerrado plant species: Effects of future climate, land use and protected areas ineffectiveness. **Diversity and Distributions**, v.25: pp. 660–673, 2019.

WAGNER, H. W; SEFC, K. M. **IDENTITY, 1.0**. Centre for Applied Genetics. University of Agricultural Sciences, Vienna. 1999.

WALAS, Ł.; GANATSAS, P.; ISZKUŁO, G.; THOMAS, P. A.; DERING, M. Spatial genetic structure and diversity of natural populations of *Aesculus hippocastanum* L. in Greece**. PLoS ONE,** 14(12): e022622, 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0226225.

WAPLES, R. S.; GAGGIOTTI, O. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. **Molecular Ecology** 15: 1419-1439, 2006.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358-1370, 1984.

WERNECK, F. P.; NOGUEIRA, C.; COLLI, G. R.; SITES-JÚNIOR, J. W.; COSTA, G. C. Climatic stability in the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical connections of South American savannas, species richness and conservation in a biodiversity hotspot. **Journal of Biogeography**, 2012. doi:10.1111/j.1365-2699.2012.02715.x.

WHITTAKER, R. J.; WILLIS, K. J.; FIELD, R. Scale and species richness: towards a general, hierarchical theory of species diversity. **Journal of Biogeography**, 28, pp. 453-470, 2001.

WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. **Biometrics**. v1: pp. 80–83, 1945.

WILSON, G. A.; RANNALA, B. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics**, 163, pp. 1177–1191, 2003.

WITH, K.A.; KING, A.W. Extinction thresholds for species in fractal landscapes. **Conserv Biol**., 13: pp. 314–326, 1999.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, v. 15, n. 1, p. 323-354, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution** 19, pp. 395-420, 1965.

ZANIN, M.; TESSAROLO, G.; MACHADO, N.; ALBERNAZ, A. L. M. Climatically-mediated landcover change: impacts on Brazilian territory. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, 89(2): pp. 939-952, 2017.

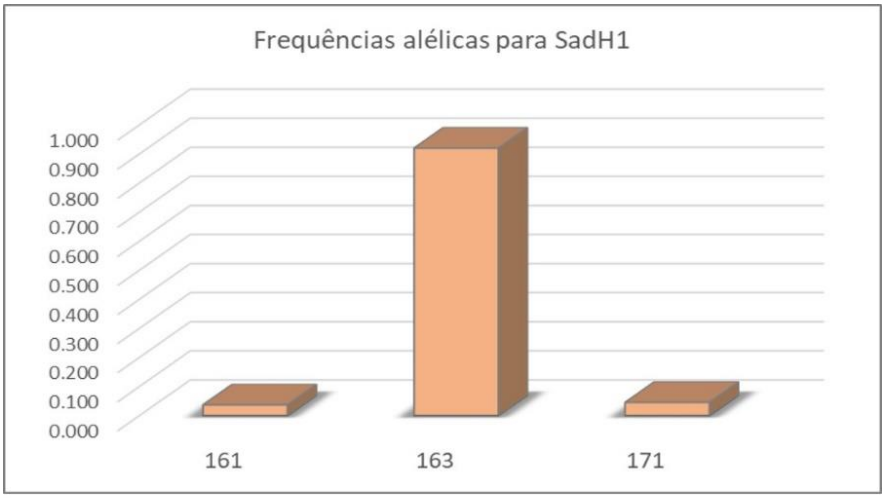
ZHANG, L.; ZHANG, S.; YE, G.; QIN, X. Seasonal variation and ecological importance of tannin and nutrient concentrations in *Casuarina equisetifolia* branchlets and fine roots. **Journal of Forestry Research**, 2019. doi: 10.1007/s11676-019-00991-0.

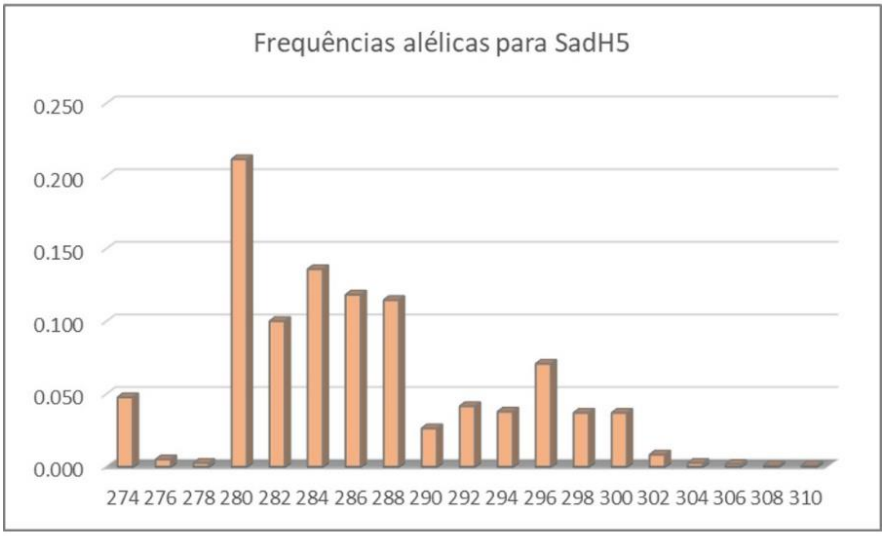
APÊNDICES

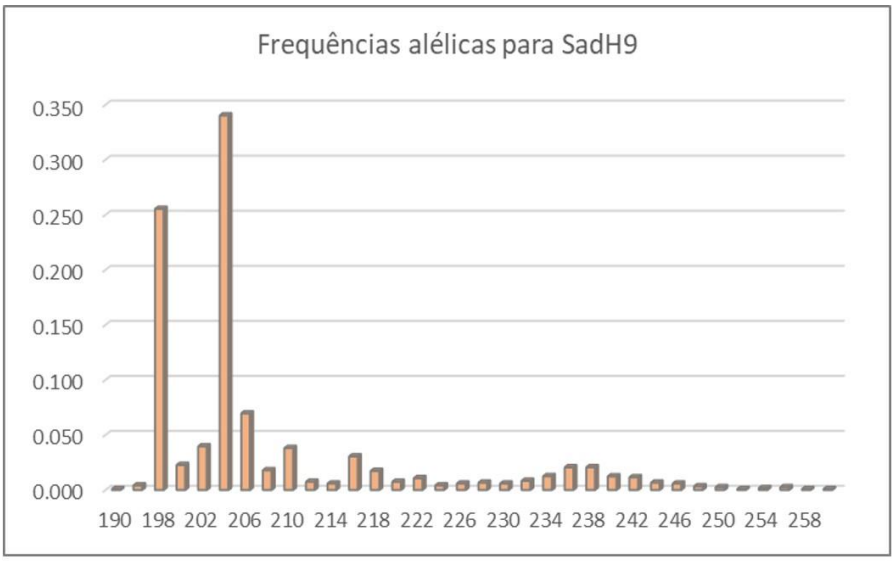
Apêndice A. Estimativas da frequência de alelos nulos estimadas para 19 subpopulações de *S. adstringens* ($p < 0,05$). As áreas destacadas apresentaram alelos nulos para os locos em determinadas subpopulações.

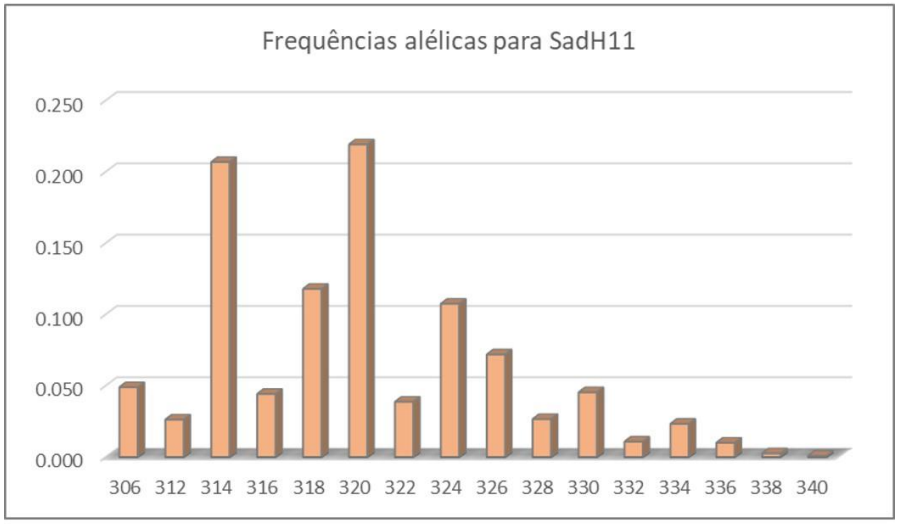
Subpop./Loco	SadH1	SadH5	SadH7	SadH9	SadH11	SadH13	SadH14	SadH16	SadH18
CANMG									
JAPMG									
CRIGO									
POSGO									
PLGGO									
TERGO									
COCGO									
BURMG									
BAMMG									
CHGMT									
SILGO									
PATMG									
PERMG									
NIQGO									
ORIGO									
CHCGO									
MOSGO									
CNOGO									
ALPGO									

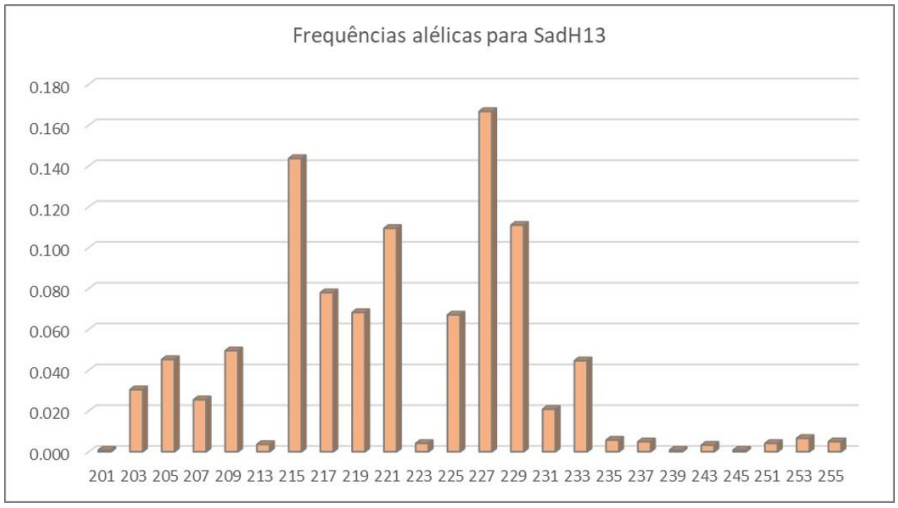
Apêndice B. Representação gráfica da distribuição das frequências alélicas de nove locos microssatélites utilizados para análise genética de 19 subpopulações de *S. adstringens*. O eixo das ordenadas corresponde às frequências alélicas e as abscissas representam os alelos encontrados em cada loco.

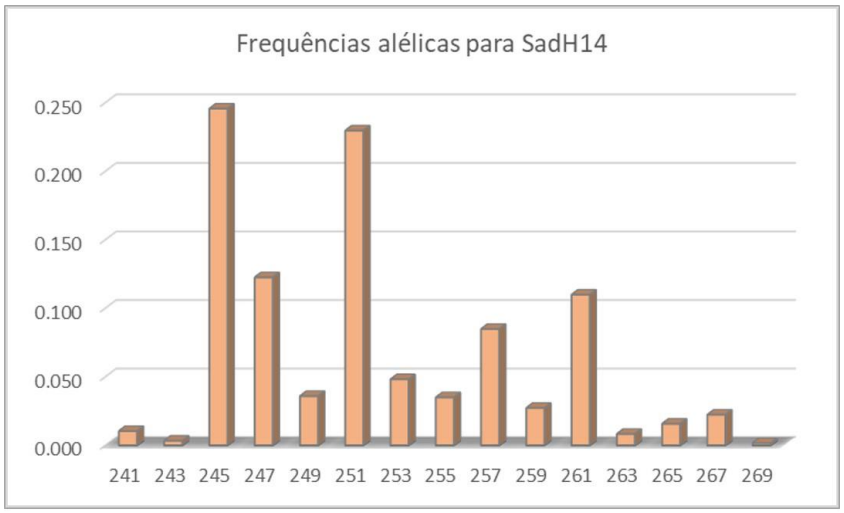


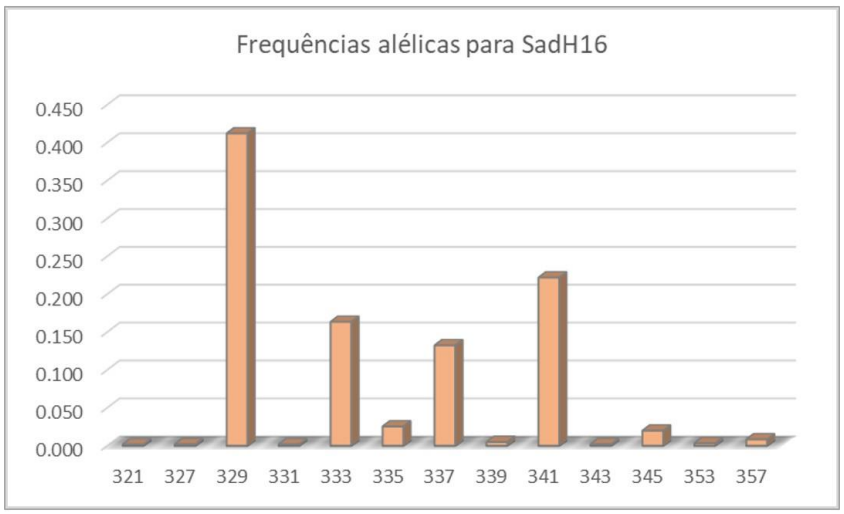


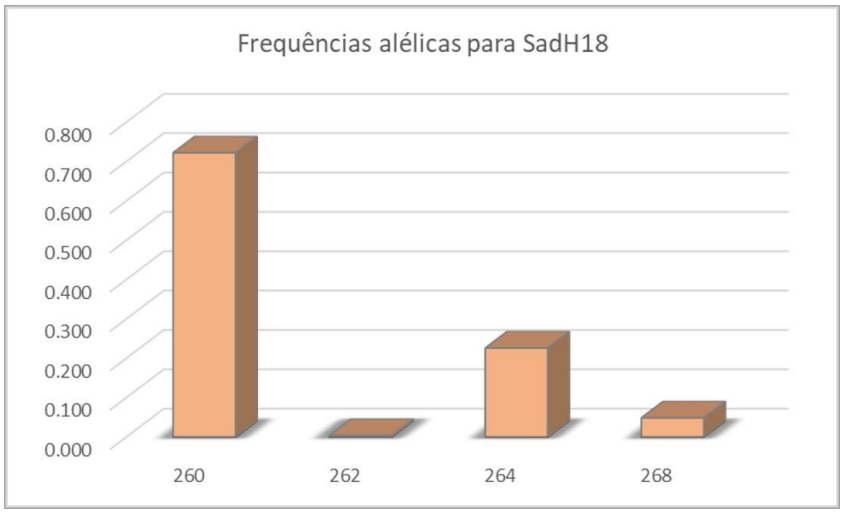

Frequências alélicas para SadH9
0.350
0.300
0.250
0.200
0.150
0.100
0.050
0.000
190 198 202 206 210 214 218 222 226 230 234 238 242 246 250 254 258


Frequências alélicas para SadH11
0.250
0.200
0.150
0.100
0.050
0.000
306 312 314 316 318 320 322 324 326 328 330 332 334 336 338 340


Frequências alélicas para SadH13
0.180
0.160
0.140
0.120
0.100
0.080
0.060
0.040
0.020
0.000
201 203 205 207 209 213 215 217 219 221 223 225 227 229 231 233 235 237 239 243 245 251 253 255


Frequências alélicas para SadH14
0.250
0.200
0.150
0.100
0.050
0.000
241 243 245 247 249 251 253 255 257 259 261 263 265 267 269


Frequências alélicas para SadH16
0.450
0.400
0.350
0.300
0.250
0.200
0.150
0.100
0.050
0.000
321 327 329 331 333 335 337 339 341 343 345 353 357


Frequências alélicas para SadH18
0.800
0.700
0.600
0.500
0.400
0.300
0.200
0.100
0.000
260 262 264 268

Apêndice C. Análise de desequilíbrio de ligação para todas as combinações possíveis de pares de marcadores, com um total de nove locos microssatélites utilizados em 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*.

Pops/ Locos	SadH1/ SadH5	SadH1/ SadH7	SadH1/ SadH9	SadH1/ SadH11	SadH1/ SadH13	SadH1/ SadH14	SadH1/ SadH16	SadH1/ SadH18	SadH5/ SadH7	SadH5/ SadH9	SadH5/ SadH11	SadH5/ SadH13	SadH5/ SadH14	SadH5/ SadH16	SadH5/ SadH18	SadH7/ SadH9	SadH7/ SadH11	SadH7/ SadH13
CANMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,937	0,620	0,778	0,009	0,704	0,826	0,411	0,474	0,643	0,757
JAPMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,167	0,109	0,929	0,379	0,967	0,562	0,312	0,518	0,155	0,787
CRIGO	0,637	0,271	1,000	0,500	0,667	0,304	1,000	1,000	0,880	0,253	1,000	1,000	1,000	0,416	0,545	0,661	0,776	1,000
POSGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,683	0,171	0,383	0,386	0,551	0,960	0,501	0,272	0,932	0,015
PLGGO	0,779	0,276	0,877	0,515	0,737	0,139	0,019	0,365	0,769	0,112	1,000	0,065	0,523	0,596	0,520	0,920	0,628	0,881
TERGO	1,000	0,481	0,349	0,822	0,821	0,212	0,243	1,000	0,593	1,000	0,055	0,049	0,010	0,288	1,000	0,974	0,074	0,088
COCGO	0,279	0,009	0,307	0,501	0,890	0,171	0,124	1,000	0,307	0,098	0,322	0,661	0,003	0,200	0,024	0,300	0,755	0,877
BURMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,826	0,810	0,753	0,204	0,090	0,808	0,636	0,841	0,318	0,434
BAMMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,061	0,578	0,583	0,835	0,746	0,601	0,706	0,021	0,726	0,246
CHGMT	0,732	0,132	1,000	0,767	0,669	0,557	0,608	0,091	0,147	0,145	0,764	0,396	0,007	0,282	0,101	0,723	0,032	0,333
SILGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,800	0,606	1,000	0,487	0,884	0,269	0,556	0,538	0,452
PATMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,706	0,118	0,030	0,205	0,032	0,254	0,638	0,350	0,196	0,799
PERMG	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,989	0,752	0,150	0,514	0,007	0,713	0,472	0,249	0,621	0,567
NIQGO	0,668	0,316	0,132	0,349	0,869	0,387	0,307	0,112	0,833	0,158	0,395	0,789	0,888	0,535	0,776	0,807	0,896	0,453
ORIGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,573	0,385	0,227	0,944	0,428	0,882	0,598	0,087	0,132	0,502
CHCGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,730	0,736	0,710	0,016	0,034	0,900	0,058	0,248	0,720	0,311
MOSGO	0,013	0,669	0,155	0,098	0,111	0,871	0,573	0,310	0,074	**0,000**	**0,000**	0,005	0,950	0,001	0,217	**0,000**	0,006	0,235
CNOGO	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,445	0,630	1,000	1,000	0,412	0,900	0,644	0,334	0,916	0,424
ALPGO	0,602	0,476	0,887	0,034	0,702	0,635	0,706	0,368	0,049	0,638	0,389	0,716	0,626	0,968	0,742	0,831	0,905	0,533

Continuação...

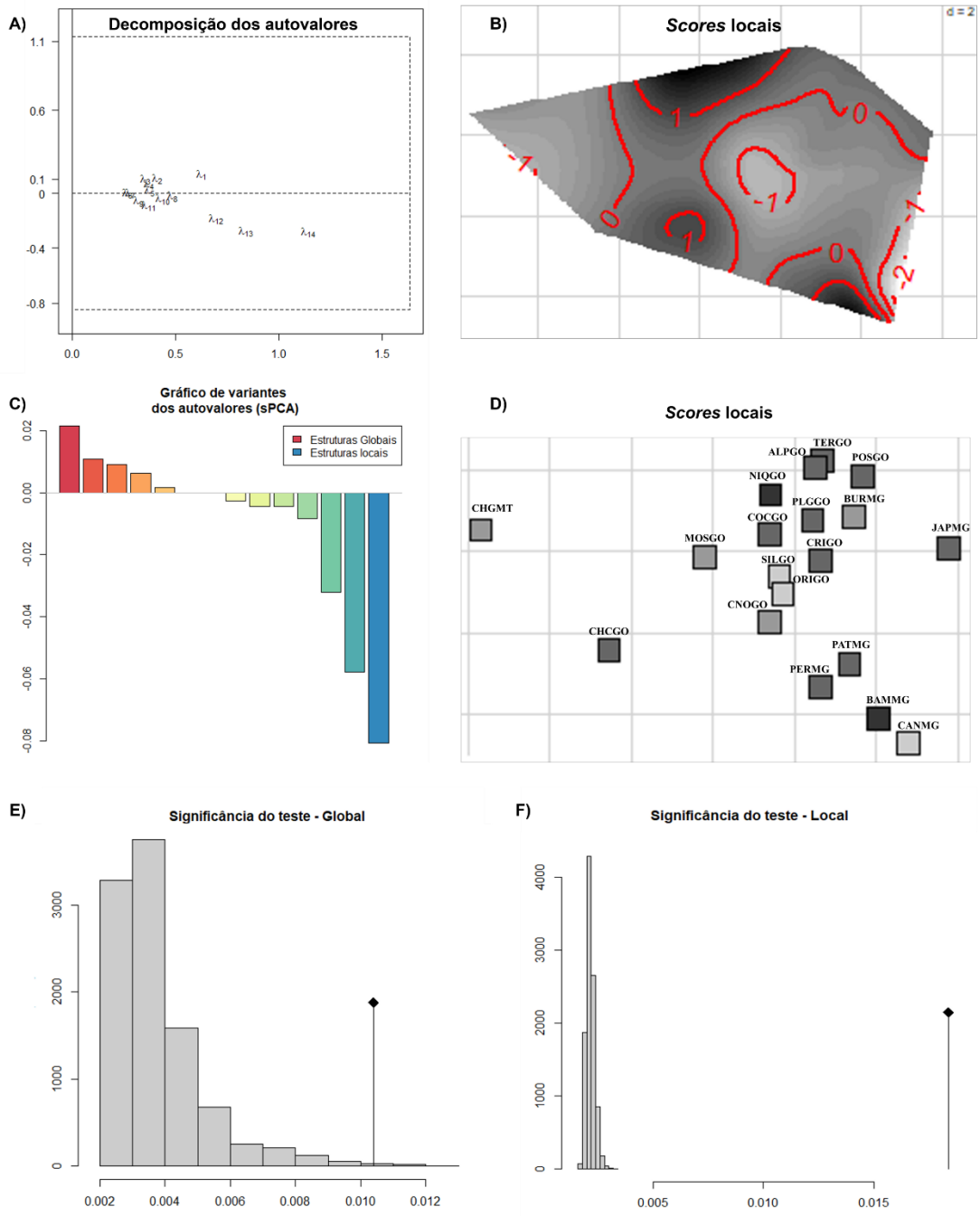
Pops/ Locos	SadH7/ SadH14	SadH7/ SadH16	SadH7/ SadH18	SadH9/ SadH11	SadH9/ SadH13	SadH9/ SadH14	SadH9/ SadH16	SadH9/ SadH18	SadH11/ SadH13	SadH11/ SadH14	SadH11/ SadH16	SadH11/ SadH18	SadH13/ SadH14	SadH13/ SadH16	SadH13/ SadH18	SadH14/ SadH16	SadH14/ SadH18	SadH16/ SadH18
CANMG	0,518	0,116	0,172	0,172	0,299	0,356	0,183	0,888	0,412	0,107	0,119	0,298	0,171	0,203	0,418	0,021	0,553	0,500
JAPMG	0,496	0,174	0,431	0,895	0,949	0,949	0,375	0,409	0,079	0,005	0,418	0,796	0,952	0,680	0,160	0,021	0,374	0,773
CRIGO	0,645	0,838	0,671	1,000	0,131	0,459	0,327	0,018	1,000	1,000	0,018	0,970	1,000	0,242	0,601	0,253	0,097	0,948
POSGO	0,427	0,382	0,196	0,033	0,283	1,000	1,000	1,000	0,013	0,594	0,539	0,436	0,860	0,026	0,111	1,000	0,688	0,095
PLGGO	0,950	0,885	0,892	1,000	0,680	0,322	0,795	0,476	0,827	0,930	0,526	0,896	0,159	0,415	0,723	0,842	0,083	0,222
TERGO	0,256	0,439	1,000	0,679	0,523	0,615	0,222	1,000	0,049	0,075	0,798	1,000	0,076	0,297	1,000	0,096	1,000	1,000
COCGO	0,128	0,167	0,721	0,009	0,129	0,611	0,429	0,400	0,137	0,065	0,308	0,731	0,413	0,261	0,240	0,143	0,295	0,077
BURMG	0,238	0,707	0,374	1,000	0,178	0,655	0,903	0,586	0,985	0,513	0,068	0,830	0,336	0,800	0,656	0,049	0,017	0,041
BAMMG	0,315	0,837	0,014	0,654	0,587	0,016	0,759	0,238	0,004	0,276	0,449	0,493	0,036	0,299	0,115	0,936	0,390	0,685
CHGMT	0,010	0,387	0,218	1,000	1,000	0,766	0,634	0,917	0,966	0,160	0,947	0,130	0,323	0,528	0,073	0,629	0,239	0,251
SILGO	0,886	0,320	0,946	0,564	0,629	0,199	0,244	0,992	0,963	0,911	0,365	0,809	0,522	0,811	0,471	0,411	0,266	0,818
PATMG	0,571	0,811	0,844	0,711	0,474	0,846	0,257	0,120	0,746	0,579	0,066	0,425	0,697	0,978	0,536	0,566	0,663	0,620
PERMG	0,088	0,649	0,248	0,068	0,917	0,395	0,302	0,482	0,380	0,023	0,186	0,392	0,123	0,296	0,118	0,107	0,984	0,545
NIQGO	0,102	0,364	0,610	0,805	0,915	0,996	0,404	0,459	0,217	0,704	0,483	0,752	0,556	0,928	0,266	0,136	0,773	0,851
ORIGO	0,740	0,427	0,668	0,705	0,819	0,872	0,977	0,469	0,862	0,316	0,620	0,921	0,783	0,076	0,895	0,446	0,379	0,884
CHCGO	0,481	0,516	0,754	1,000	0,875	0,940	0,090	0,405	0,517	0,035	0,869	0,775	0,417	0,631	0,993	0,627	0,025	0,122
MOSGO	0,753	0,661	0,206	**0,000**	**0,000**	0,859	0,002	0,031	**0,000**	0,786	0,081	0,046	0,881	0,117	0,023	0,727	0,464	0,335
CNOGO	0,879	0,556	0,560	0,884	0,893	0,770	0,446	0,726	1,000	0,538	0,964	0,686	0,091	0,104	0,349	0,467	0,037	0,523
ALPGO	0,014	0,810	1,000	0,729	0,746	0,972	0,660	0,648	0,556	0,702	0,861	0,864	0,173	0,997	0,896	0,705	0,998	0,604

Apêndice D. Valores de F_{ST} entre os pares de subpopulações de *Stryphnodendron adstringens* obtidos a partir de nove marcadores microssatélites. Todos os valores foram significativos (+) a um valor de $p = 0,05$.

	CANMG	JAPMG	CRIGO	POSGO	PLGGO	TERGO	COCGO	BURMG	BAMMG	CHGMT	SILGO	PATMG	PERMG	NIQGO	ORIGO	CHCGO	MOSGO	CNOGO	ALPGO
CANMG	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JAPMG	0,1691	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRIGO	0,0829	0,1229	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
POSGO	0,1861	0,1271	0,1452	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PLGGO	0,0971	0,1395	0,0734	0,1688	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TERGO	0,1746	0,2142	0,1722	0,2342	0,1265	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
COCGO	0,1576	0,1833	0,0974	0,1893	0,1084	0,1913	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BURMG	0,1200	0,1326	0,0925	0,1124	0,1243	0,1931	0,1471	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BAMMG	0,1619	0,2010	0,1655	0,2347	0,1808	0,2238	0,2029	0,1774	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CHGMT	0,3130	0,2555	0,3019	0,2801	0,2568	0,2756	0,3035	0,2718	0,2444	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SILGO	0,1073	0,1702	0,0739	0,1657	0,0795	0,1782	0,1000	0,1397	0,2000	0,2908	0,0000	+	+	+	+	+	+	+	+
PATMG	0,1048	0,1764	0,0839	0,2054	0,1258	0,2582	0,1384	0,1560	0,1839	0,3414	0,1143	0,0000	+	+	+	+	+	+	+
PERMG	0,0899	0,1540	0,0445	0,1746	0,0877	0,2046	0,1108	0,1387	0,1425	0,2958	0,0781	0,0640	0,0000	+	+	+	+	+	+
NIQGO	0,2481	0,2125	0,1979	0,1998	0,1433	0,1819	0,1924	0,1981	0,2397	0,2326	0,2159	0,2653	0,2325	0,0000	+	+	+	+	+
ORIGO	0,1519	0,2127	0,1016	0,2381	0,1338	0,2542	0,1126	0,2019	0,2438	0,3467	0,0485	0,1294	0,1002	0,2959	0,0000	+	+	+	+
CHCGO	0,1089	0,1757	0,0683	0,1847	0,0794	0,1986	0,1173	0,1293	0,1710	0,2797	0,0764	0,1005	0,0713	0,1996	0,1008	0,0000	+	+	+
MOSGO	0,1026	0,1775	0,1020	0,1886	0,0951	0,1671	0,0857	0,1636	0,2110	0,2826	0,0921	0,1223	0,1155	0,2063	0,1079	0,0762	0,0000	+	+
CNOGO	0,1046	0,2009	0,0738	0,2090	0,1092	0,2239	0,1052	0,1449	0,2087	0,3212	0,0636	0,0738	0,0748	0,2382	0,0742	0,0715	0,0916	0,0000	+
ALPGO	0,1786	0,1683	0,1251	0,1358	0,1043	0,1300	0,1713	0,1442	0,1921	0,2381	0,1587	0,2207	0,1611	0,0611	0,2403	0,1223	0,1558	0,1928	0,0000

Apêndice E. Resumo da análise de sPCA com 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, evidenciando autocorrelação negativa de autovalores de PCA e estrutura espacial com os índices *I* de Moran.

Eixo	Autovalores	Variância	*I* de Moran
1	0,0214	0,6264	0,1370
2	0,0108	0,4108	0,1054
3	0,0090	0,3553	0,1019
4	0,0062	0,3717	0,0669
5	0,0017	0,3738	0,0179
6	0,0000	0,2671	0,0000
7	0,0000	0,2823	0,0000
8	-0,0027	0,4854	-0,0226
9	-0,0045	0,3200	-0,0561
10	-0,0045	0,4391	-0,0409
11	-0,0084	0,3719	-0,0900
12	-0,0321	0,6976	-0,1841
13	-0,0579	0,8407	-0,2754
14	-0,0806	1,1446	-0,2818



Apêndice F. Padrão espacial de 19 subpopulações de *S. adstringens* a partir da análise sPCA. **A)** Decomposição de cada autovalor em seus componentes de autocorrelação espacial e variância. Cada λi representa autovalores de sPCA, onde λ1 é o maior positivo e λ14 é o maior negativo, de acordo com sua variação e os componentes *I* de Moran (Apêndice E). **B)** Interpolação de *scores* locais. As linhas de contorno vermelhas mais próximas, indicam maior diferenciação genética. **C)** gráfico de barras de autovalores. Autovalores positivos (à esquerda) indicam estruturas globais e autovalores negativos (à direita) indicam padrões locais. **D)** Mapa de entidades dos *scores* locais da sPCA, representando as 19 subpopulações. Os quadrados escuros indicam autocorrelação positiva e os claros, autocorrelação negativa. **E)** Histograma de teste G; canto inferior direito. **F)** Histograma de teste L. Os dois últimos são histogramas de estatísticas de testes de permutação, em que as estatísticas observadas são indicadas por um losango preto. Ambos os testes foram significativos, indicando estrutura global e local.

Apêndice G. Resultados do MIGRATE-n para o parâmetro mutacional θ e cálculo para o tamanho efetivo populacional, para cada subpopulação de *Stryphnodendron adstringens.* Os percentis correspondem a 2,5% e 97,5% da distribuição posterior, respectivamente.

Subpop.	$\boldsymbol{\theta}$	**Percentis**	***Ne***
CANMG	0,022	(0,007 - 0,013)	28,06
JAPMG	0,010	(0,003 - 0,013)	12,25
CRIGO	0,027	(0,011 - 0,021)	33,58
POSGO	0,008	(0,000 - 0,005)	10,18
PLGGO	0,016	(0,006 - 0,012)	19,91
TERGO	0,022	(0,001 - 0,006)	28,00
COCGO	0,025	(0,018 - 0,043)	31,09
BURMG	0,002	(0,000 - 0,005)	2,43
BAMMG	0,030	(0,021 - 0,042)	37,46
CHGMT	0,006	(0,002 - 0,010)	7,88
SILGO	0,024	(0,019 - 0,040)	29,96
PATMG	0,060	(0,042 - 0,094)	75,16
PERMG	0,010	(0,00 - 0,004)	12,25
NIQGO	0,006	(0,004 - 0,008)	7,51
ORIGO	0,021	(0,010 - 0,036)	25,68
CHCGO	0,077	(0,052 - 0,100)	96,30
MOSGO	0,026	(0,004 - 0,014)	32,34
CNOGO	0,004	(0,00 - 0,008)	4,63
ALPGO	0,013	(0,009 - 0,017)	16,40
Média	0,022	-	26,90

$Ne = \theta/4\mu$, considerando a taxa de mutação $\mu=2{,}0 \times 10^{-4}$.

Apêndice H. Taxas históricas de migração (*m*) entre 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, calculadas no programa MIGRATE-n. Os valores na diagonal inferior correspondem às subpopulações doadoras (linha vertical), enquanto a diagonal superior aponta as taxas de migração nas subpopulações receptoras (linha horizontal).

	CANMG	JAPMG	CRIGO	POSGO	PLGGO	TERGO	COCGO	BURMG	BAMMG	CHGMT	SILGO	PATMG	PERMG	NIQGO	ORIGO	CHCGO	MOSGO	CNOGO	ALPGO
CANMG	-	0,0094	0,0110	0,0082	0,0190	0,0074	0,0086	0,0058	0,0137	0,0057	0,0154	0,0097	0,0288	0,0068	0,0075	0,0103	0,0103	0,0039	0,0100
JAPMG	0,0094	-	0,0039	0,0122	0,0070	0,0087	0,0072	0,0094	0,0130	0,0146	0,0150	0,0127	0,0085	0,0162	0,0094	0,0100	0,0068	0,0116	0,0106
CRIGO	0,0157	0,0060	-	0,0103	0,0143	0,0239	0,0043	0,0077	0,0115	0,0144	0,0214	0,0133	0,0095	0,0091	0,0046	0,0032	0,0153	0,0117	0,0035
POSGO	0,0119	0,0127	0,0129	-	0,0082	0,0103	0,0069	0,0322	0,0077	0,0123	0,0103	0,0125	0,0139	0,0053	0,0055	0,0076	0,0167	0,0120	0,0144
PLGGO	0,0024	0,0052	0,0169	0,0126	-	0,0317	0,0112	0,0132	0,0083	0,0094	0,0241	0,0098	0,0084	0,0252	0,0122	0,0049	0,0067	0,0086	0,0159
TERGO	0,0103	0,0053	0,0091	0,0060	0,0107	-	0,0039	0,0070	0,0049	0,0093	0,0072	0,0075	0,0047	0,0080	0,0092	0,0148	0,0039	0,0043	0,0079
COCGO	0,0087	0,0039	0,0103	0,0057	0,0061	0,0060	-	0,0057	0,0049	0,0045	0,0116	0,0057	0,0079	0,0082	0,0042	0,0119	0,0045	0,0102	0,0120
BURMG	0,0099	0,0113	0,0105	0,0096	0,0151	0,0105	0,0089	-	0,0111	0,0065	0,0126	0,0174	0,0078	0,0115	0,0078	0,0167	0,0180	0,0134	0,0225
BAMMG	0,0204	0,0076	0,0142	0,0179	0,0101	0,0135	0,0102	0,0138	-	0,0254	0,0086	0,0201	0,0224	0,0044	0,0096	0,0210	0,0095	0,0069	0,0076
CHGMT	0,0090	0,0091	0,0086	0,0062	0,0230	0,0056	0,0064	0,0023	0,0121	-	0,0043	0,0085	0,0068	0,0105	0,0033	0,0061	0,0027	0,0040	0,0106
SILGO	0,0063	0,0114	0,0073	0,0048	0,0137	0,0093	0,0145	0,0117	0,0115	0,0066	-	0,0086	0,0112	0,0143	0,0100	0,0088	0,0133	0,0204	0,0059
PATMG	0,0126	0,0060	0,0101	0,0071	0,0018	0,0034	0,0068	0,0156	0,0266	0,0075	0,0071	-	0,0080	0,0053	0,0080	0,0058	0,0129	0,0111	0,0110
PERMG	0,0135	0,0053	0,0117	0,0090	0,0092	0,0086	0,0075	0,0067	0,0147	0,0106	0,0167	0,0035	-	0,0120	0,0087	0,0119	0,0137	0,0233	0,0384
NIQGO	0,0028	0,0087	0,0106	0,0086	0,0244	0,0091	0,0082	0,0098	0,0094	0,0035	0,0108	0,0035	0,0163	-	0,0087	0,0038	0,0098	0,0051	0,0068
ORIGO	0,0067	0,0066	0,0146	0,0059	0,0113	0,0051	0,0047	0,0071	0,0084	0,0096	0,0164	0,0545	0,0148	0,0036	-	0,0085	0,0251	0,0059	0,0122
CHCGO	0,0122	0,0048	0,0166	0,0045	0,0217	0,0287	0,0243	0,0068	0,0100	0,0141	0,0057	0,0119	0,0167	0,0072	0,0093	-	0,0036	0,0086	0,0182
MOSGO	0,0092	0,0162	0,0088	0,0091	0,0095	0,0082	0,0119	0,0210	0,0072	0,0081	0,0099	0,0079	0,0097	0,0079	0,0032	0,0088	-	0,0148	0,0149
CNOGO	0,0127	0,0082	0,0202	0,0079	0,0152	0,0045	0,0096	0,0117	0,0052	0,0104	0,0237	0,0180	0,0061	0,0086	0,0144	0,0158	0,0141	-	0,0154
ALPGO	0,0085	0,0114	0,0094	0,0064	0,0089	0,0041	0,0084	0,0051	0,0143	0,0181	0,0127	0,0067	0,0247	0,0123	0,0021	0,0047	0,0089	0,0047	-

Apêndice I. Número de migrantes por geração ($M = m/\mu$), estimados por análise de coalescência no programa MIGRATE-n, entre 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, Os valores na diagonal inferior correspondem às subpopulações doadoras (linha vertical), enquanto a diagonal superior aponta as taxas de migração nas subpopulações receptoras (linha horizontal).

	CANMG	JAPMG	CRIGO	POSGO	PLGGO	TERGO	COCGO	BURMG	BAMMG	CHGMT	SILGO	PATMG	PERMG	NIQGO	ORIGO	CHCGO	MOSGO	CNOGO	ALPGO
CANMG	-	18,80	21,91	16,48	38,04	14,88	17,12	11,64	27,30	11,38	30,83	19,45	57,57	13,64	15,06	20,69	20,59	7,86	20,00
JAPMG	18,80	-	7,86	24,40	13,94	17,32	14,41	18,83	25,90	29,22	29,91	25,50	17,06	32,46	18,73	19,96	13,60	23,19	21,29
CRIGO	31,34	11,91	-	20,63	28,66	47,76	8,61	15,34	23,06	28,82	42,85	26,53	19,09	18,25	9,17	6,31	30,55	23,48	6,97
POSGO	23,86	25,49	25,81	-	16,46	20,55	13,70	64,37	15,40	24,62	20,54	24,91	27,77	10,69	10,90	15,27	33,35	23,93	28,79
PLGGO	4,84	10,34	33,70	25,12	-	63,41	22,42	26,50	16,55	18,82	48,22	19,63	16,76	50,33	24,38	9,90	13,44	17,12	31,72
TERGO	20,68	10,64	18,21	12,06	21,37	-	7,87	13,96	9,73	18,61	14,46	14,93	9,45	16,09	18,50	29,54	7,84	8,53	15,83
COCGO	17,37	7,74	20,51	11,48	12,21	11,90	-	11,46	9,87	8,95	23,12	11,42	15,86	16,38	8,37	23,85	9,03	20,31	23,95
BURMG	19,76	22,64	20,93	19,20	30,19	21,02	17,72	-	22,11	12,97	25,18	34,87	15,61	23,07	15,62	33,35	35,92	26,89	44,97
BAMMG	40,71	15,11	28,31	35,72	20,16	26,98	20,33	27,63	-	50,76	17,13	40,15	44,81	8,79	19,22	42,08	19,06	13,77	15,13
CHGMT	18,09	18,17	17,25	12,45	46,08	11,21	12,73	4,65	24,14	-	8,64	17,06	13,54	20,92	6,66	12,21	5,49	7,97	21,29
SILGO	12,60	22,83	14,65	9,57	27,43	18,55	29,09	23,36	23,01	13,24	-	17,28	22,43	28,52	19,91	17,68	26,68	40,75	11,81
PATMG	25,26	12,02	20,29	14,22	3,59	6,79	13,56	31,21	53,14	14,93	14,30	-	16,06	10,60	16,02	11,65	25,79	22,19	22,02
PERMG	27,08	10,67	23,45	18,07	18,42	17,25	14,92	13,43	29,47	21,27	33,32	7,01	-	24,02	17,40	23,78	27,36	46,68	76,77
NIQGO	5,54	17,48	21,18	17,10	48,76	18,17	16,33	19,69	18,89	6,96	21,62	6,93	32,62	-	17,33	7,67	19,64	10,11	13,64
ORIGO	13,45	13,13	29,11	11,86	22,69	10,26	9,46	14,20	16,88	19,17	32,84	108,92	29,62	7,22	-	16,98	50,29	11,81	24,34
CHCGO	24,40	9,57	33,20	8,93	43,31	57,38	48,59	13,62	20,04	28,25	11,39	23,76	33,49	14,39	18,60	-	7,24	17,28	36,32
MOSGO	18,49	32,48	17,65	18,26	19,09	16,46	23,78	42,01	14,31	16,11	19,89	15,79	19,30	15,70	6,47	17,67	-	29,65	29,83
CNOGO	25,49	16,48	40,31	15,75	30,47	9,06	19,24	23,33	10,41	20,78	47,37	36,10	12,24	17,15	28,82	31,54	28,16	-	30,73
ALPGO	17,01	22,82	18,83	12,87	17,72	8,20	16,78	10,27	28,58	36,13	25,46	13,34	49,47	24,69	4,15	9,31	17,79	9,45	-

Apêndice J. Taxas de migração recentes (m_c) entre 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, calculadas no programa BayesAss. As subpopulações doadoras se encontram na vertical (indicadas na primeira coluna), enquanto que as receptoras estão na horizontal. Os valores em negrito na diagonal se referem às taxas de não-migração (a população doadora também é receptora).

D → R	CANMG	JAPMG	CRIGO	POSGO	PLGGO	TERGO	COCGO	BURMG	BAMMG	CHGMT	SILGO	PATMG	PERMG	NIQGO	ORIGO	CHCGO	MOSGO	CNOGO	ALPGO
CANMG	**0,769**	0,010	0,007	0,007	0,009	0,007	0,007	0,010	0,012	0,007	0,007	0,007	0,093	0,007	0,009	0,007	0,012	0,007	0,007
JAPMG	0,008	**0,869**	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,012	0,007	0,008	0,007	0,008	0,007	0,007
CRIGO	0,010	0,008	**0,680**	0,007	0,027	0,007	0,013	0,013	0,009	0,007	0,007	0,007	**0,135***	0,007	0,032	0,012	0,007	0,007	0,007
POSGO	0,007	0,008	0,007	**0,876**	0,007	0,007	0,007	0,009	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
PLGGO	0,008	0,008	0,008	0,007	**0,846**	0,007	0,008	0,007	0,008	0,008	0,007	0,007	0,011	0,021	0,008	0,010	0,009	0,007	0,007
TERGO	0,011	0,011	0,011	0,011	0,013	**0,678**	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	**0,132***	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011
COCGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	**0,846**	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,015	0,008	0,019	0,008	0,011	0,007	0,007
BURMG	0,007	0,013	0,007	0,016	0,007	0,007	0,007	**0,852**	0,013	0,007	0,007	0,007	0,011	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007
BAMMG	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	**0,877**	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007
CHGMT	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	**0,869**	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
SILGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	**0,673**	0,007	0,008	0,007	**0,213***	0,007	0,007	0,007	0,007
PATMG	0,008	0,008	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	**0,674**	**0,198***	0,007	0,008	0,008	0,008	0,008	0,007
PERMG	0,009	0,009	0,008	0,007	0,009	0,007	0,007	0,007	0,010	0,007	0,007	0,007	**0,856**	0,007	0,013	0,010	0,007	0,007	0,007
NIQGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007	**0,880**	0,006	0,007	0,007	0,007	0,007
ORIGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,012	0,007	**0,873**	0,007	0,008	0,006	0,006
CHCGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,010	0,007	0,012	0,008	0,007	0,008	0,007	0,007	0,014	0,011	0,021	**0,842**	0,008	0,007	0,007
MOSGO	0,008	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,011	0,008	0,009	0,007	0,007	0,007	0,011	0,008	0,010	0,009	**0,854**	0,007	0,007
CNOGO	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,009	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,023	0,007	**0,190***	0,012	0,007	**0,673**	0,007
ALPGO	0,008	0,007	0,008	0,008	0,009	0,007	0,008	0,008	0,008	0,008	0,007	0,007	0,008	**0,195***	0,008	0,008	0,008	0,007	**0,674**

*****: valores significativos a um intervalo de 95%.

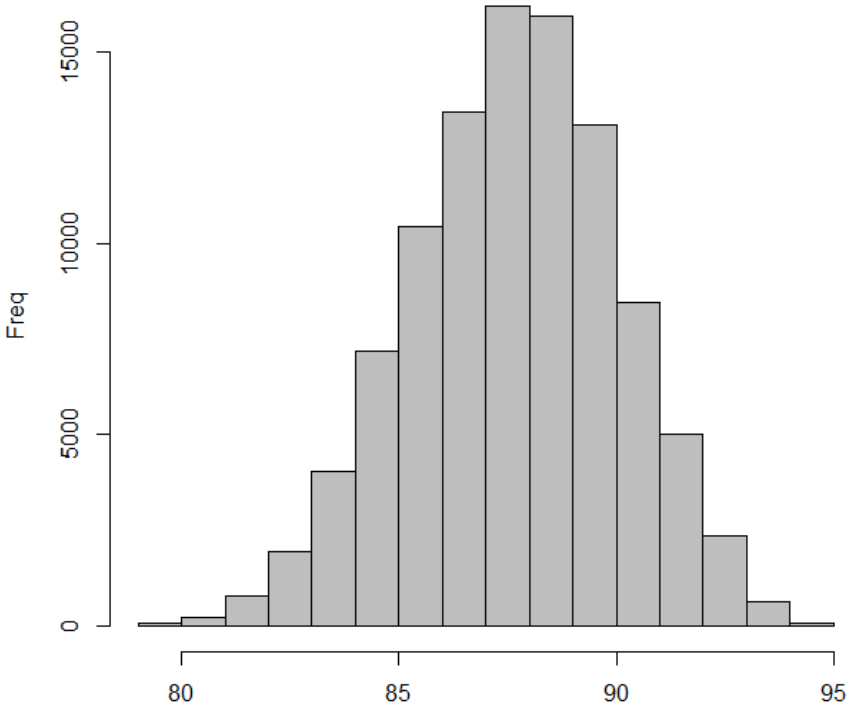
Apêndice K. Valores de associação proporcional (Θ) obtidos para os dois grupos encontrados na análise bayesiana do STRUCTURE pelo método de Evanno et al. (2005), considerando as 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*.

Subpop.	**Associação proporcional (Θ)**	
	Azul (Cluster 1)	**Laranja (Cluster 2)**
CANMG	0,9771	0,0229
JAPMG	0,1141	0,8859
CRIGO	0,9287	0,0713
POSGO	0,0036	0,9964
PLGGO	0,5225	0,4775
TERGO	0,0696	0,9304
COCGO	0,9629	0,0371
BURMG	0,0938	0,9062
BAMMG	0,9352	0,0648
CHGMT	0,0000	1,0000
SILGO	0,9837	0,0163
PATMG	0,9664	0,0336
PERMG	0,9918	0,0082
NIQGO	0,0033	0,9967
ORIGO	0,9998	0,0002
CHCGO	0,9437	0,0563
MOSGO	0,8404	0,1596
CNOGO	0,9980	0,0020
ALPGO	0,0865	0,9135
Média	0,6011	0,3989

Apêndice L. Resumo da análise de redundância RDA com 19 subpopulações de *Stryphnodendron adstringens*, três variáveis bioclimáticas e altitude. Os primeiros componentes canônicos explicam juntos 57,28% de toda a variação encontrada (ambos significativos).

Componente	Autovalor	Proporção explicada	Cumulativo	F	Pr(>F)
RDA1	0,322	0,411	0,411	21,540	0,001***
RDA2	0,237	0,301	0,712	15,805	0,001***
RDA3	0,188	0,241	0,953	12,619	0,001***
RDA4	0,0373	0,048	1	2,494	0,009**

**: valor significativo (< 0,01).
***: valor significativo (< 0,001).



Apêndice M. Distribuição estatística do número de alelos representados em 15.000 combinações estocásticas de subpopulações, para um N = 7. Nenhuma combinação aleatória seria capaz de representar todos os 100 alelos.

ANEXO

Anexo I. Descrição das 19 variáveis bioclimáticas fornecidas pelo ecoClimate (http://ecoclimate.org/), derivadas das variáveis de temperatura e precipitação. Fonte: Lima-Ribeiro et al. (2015).

Variável	Descrição (nome → unidade)
BIO1	Temperatura média anual → (°C)
BIO2*	Intervalo médio diurno (Média mensal (max temp - min temp)) → (°C)
BIO3	Isotermalidade (100*BIO2/BIO7) → (%)
BIO4*	Sazonalidade de Temperatura (desvio padrão * 100) → (%)
BIO5	Temperatura máxima do mês mais quente → (°C)
BIO6	Temperatura mínima do mês mais frio → (°C)
BIO7	Intervalo da temperatura anual (BIO5-BIO6) → (°C)
BIO8	Temperatura média do quadrimestre mais úmido → (°C)
BIO9	Temperatura média do quadrimestre mais seco → (°C)
BIO10	Temperatura média do quadrimestre mais quente → (°C)
BIO11	Temperatura média do quadrimestre mais frio→ (°C)
BIO12	Precipitação Anual → (mm/m²)
BIO13	Precipitação do mês mais úmido → (mm/m²)
BIO14	Precipitação do mês mais seco → (mm/m²)
BIO15	Sazonalidade de Precipitação (coeficiente de variação) → (%)
BIO16*	Precipitação do quadrimestre mais úmido → (mm/m²)
BIO17	Precipitação do quadrimestre mais seco → (mm/m²)
BIO18	Precipitação do quadrimestre mais quente → (mm/m²)
BIO19	Precipitação do quadrimestre mais frio → (mm/m²)

*****Variáveis selecionadas para o estudo.