



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**GENÉTICA GEOGRÁFICA DE *Hymenaea stigonocarpa*
(FABACEAE)**

RAMILLA DOS SANTOS BRAGA

Orientador (a):

Prof^a. Dra. Mariana Pires de Campos Telles

Goiânia, GO - Brasil

2015

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

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

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Ramilla dos Santos Braga

Título do trabalho: Genética geográfica de *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae)

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

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

Ramilla dos Santos Braga
Assinatura do (a) autor (a)

Data: 19 / 12 / 2016

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

RAMILLA DOS SANTOS BRAGA

**GENÉTICA GEOGRÁFICA DE *Hymenaea stigonocarpa*
(FABACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientador (a):

Prof.(a) Dra. Mariana Pires de Campos Telles

Goiânia, GO - Brasil

2015

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

Braga, Ramilla dos Santos Braga
Genética geográfica de *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae)
[manuscrito] / Ramilla dos Santos Braga Braga. - 2015.
134 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Mariana Pires de Campos Telles
Telles.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Apêndice.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. diferenciação genética. 2. jatobá-do-cerrado. 3. microsatélites.
4. padrão espacial. 5. variedades botânicas. I. Telles, Dra. Mariana Pires de Campos Telles, orient. II. Título.

CDU 575



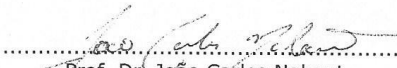
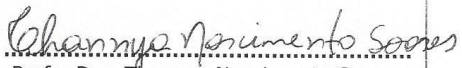
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO DO TRABALHO: "GENÉTICA GEOGRÁFICA DE *Hymenaea stigonocarpa* (FABACEAE)".

AUTOR (A): **RAMILLA DOS SANTOS BRAGA**

DISSERTAÇÃO Nº 029, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR, DEFENDIDA E APROVADA EM SESSÃO PÚBLICA, NA DATA DE 29 DE SETEMBRO DE 2015, ÀS 14:00 HS, NO AUDITÓRIO DA ESCOLA DE AGRONOMIA, CUJA BANCA EXAMINADORA ESTEVE CONSTITUÍDA DOS SEGUINTE PROFESSORES:

 Prof. Dra. Mariana Pires de Campos Telles ICB/UFG	
 Prof. Dr. João Carlos Nabout UEG/GO	 Prof. Dra. Thannya Nascimento Soares ICB/UFG

HOVE MUDANÇA NO TÍTULO? SIM() NÃO (X)

CASO HAJA MUDANÇA, ESCRIVER ABAIXO O NOVO TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

.....
.....
.....

OBS: O título na dissertação impressa deve corresponder exatamente ao que se encontra na ata.



GOIÂNIA (GO) 29 / 09 / 2015

A Deus, pela presença constante
em minha vida.

DEDICO.

Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às
mudanças – *Charles Darwin*

Aos meus pais, Vilmar e Valdivina,
e à toda minha família.

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata aos órgãos de fomento, principalmente aqueles que deram todo suporte financeiro. Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado, GENPAC-02 CNPq/Fapeg/PRO-CENTRO-OESTE (563839/2010-4 e 201110267000125), Pronex – Fapeg/CNPq (CHAMADA PÚBLICA No. 07/2012) e CNPq (447754/2014-9) e Naturae (Consultoria Ambiental LTDA.) pelo apoio financeiro e manutenção das etapas de execução deste trabalho. Sem o suporte oferecido por estas instituições e projetos implantados pelo grupo de pesquisa do LGBIO (Laboratório de Genética & Biodiversidade) todo esse trabalho não teria sido realizado, por isso meu muito obrigada.

À minha orientadora Dra. Mariana Telles, agradeço não apenas pela sua dedicação em me orientar, em me mostrar aquilo que não consigo ver, mas por tudo que me proporcionou, tenho um imenso carinho e gratidão. A você Mari sou muito agradecida, pois você acreditou em mim no momento em que eu mais precisei, você me deu a oportunidade de ser quem sou hoje. Muito obrigada mesmo e conte sempre comigo. Também aproveito para agradecer as Professoras Thannya Soares, Daniela e a Rosane Collevatti que junto com a Professora Mariana mantém o LGBIO e nos proporciona um ensino e capacitação de qualidade. À Professora Rosane tenho grande carinho, pois sempre se dispôs a esclarecer minhas dúvidas, muito obrigada! Ao Professor Lázaro Chaves, Professora Mariana e ao Elias, muito obrigada pela companhia durante todas as coletas, sem vocês este trabalho não teria acontecido. A experiência em campo foi de grande valia para compreender a tamanha extensão deste e de todos os projetos executados no LGBIO.

Agradeço ao programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular e todo o corpo docente e todos os funcionários, pois todo o ensinamento e arcabouço teórico foram primordiais para minha formação acadêmica e profissional. Também agradeço por todos os amigos de disciplinas, nossas discussões sempre nos enriquece e faz querer aprender mais.

À minha amada família sou eternamente grata, em especial aos meus pais, Vilmar e Valdivina, pelos ensinamentos de caráter, educação e respeito, pois sei que foram e são essenciais para alcançar meus objetivos. Aos meus irmãos, Renata, Emilio e Dalila, agradeço pela convivência de sempre, pelas trocas de ideia, aprendi muito com vocês, mesmo estando longe. À minha irmã Dalila quero agradecer pelos nossos momentos de

conversa e apoio uma a outra, sua amizade e compreensão mesmo durante minha ausência é imprescindível para mim. Ao meu pequenino sobrinho Henrique que consegue me arrancar sorrisos e me faz feliz como tia. Em especial, quero agradecer do fundo do meu coração aos meus tios Maria Lucilene e Odomias por me proporcionarem um cantinho com muito amor, cuidado, proteção e que nunca mediram esforços em me ajudar naquilo que podem. Ao meu namorado Adriano, muito obrigada pelo companheirismo e parceria, seu apoio é sempre motivador. De maneira geral, agradeço todos da minha família que de alguma forma foram importantes para minha evolução como pessoa, vocês são minha base. Amo imensamente a todos.

Aos meus amigos de LGBIO, o nosso convívio diário nos aproxima e nos faz um “dependente” do outro, de tal forma que é difícil explicar o quanto a amizade de vocês foi importante para que todo o processo de realização desse trabalho fosse cumprido. Quero agradecer minha amiga de sempre, sempre mesmo, Vanessa que nunca deixa me faltar um sorriso e uma palavra de incentivo, com ela não tem tempo ruim, obrigada pela sua presença na minha vida. À Tati, minha amiga, sou muito grata a todos os conselhos, sua experiência foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional. Todos amigos de laboratório, Dani, Sara, Patrícia, Rejane, Kássia, Thaís, Nicole e Josimar sem vocês nada teria acontecido, não teria aprendido tanto com vocês, compartilhamos muitos momentos de bancada e conversas agradáveis. Aos meus amigos Eduadrdo e Edvaldo, vocês sem dúvida me fizeram crescer como profissional, a experiência e amizade entre nós foram muito importantes. Vocês me mostraram como o mestrado pode nos enriquecer, sou e sempre serei grata a vocês. Ao pessoal do Pós-Doc, em especial a Liliana e Monik vocês foram essenciais para execução das análises deste trabalho, contem sempre comigo!

MEU MUITO OBRIGADA A TODOS!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	3
LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE APÊNDICES.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 O Cerrado.....	16
2.2 A Família Fabaceae: com enfoque para subfamília Caesalpinioideae	19
2.3 O gênero <i>Hymenaea</i>	22
2.4 A ESPÉCIE <i>Hymenaea stigonocarpa</i>	26
2.4.1 Aspectos Botânicos.....	26
2.4.2 Aspectos Ecológicos	30
2.4.3 Aspectos Bioquímicos	32
2.4.4 Potencial de Utilização Econômica	33
2.4.5 Aspectos Genéticos Populacionais	34
2.5 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES POR MARCADORES MOLECULARES	37
2.6 GENÉTICA GEOGRÁFICA: ABORDAGENS ESPACIAIS NO ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA	39
2.6.1 Estudo da variabilidade genética no contexto geográfico.....	39
2.6.2 Estatísticas espacialmente implícitas e explícitas para análise da estrutura genética espacial.....	41
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1 Áreas de coletas e amostragem de material biológico	48
3.2 Extração de DNA e amplificação das regiões microssatélites.....	49
3.3 Análises Genético-Estatísticas.....	56
3.3.1 Caracterização da variabilidade genética dos locos microssatélites	56
3.3.2 Diversidade e divergência genética entre as variedades botânicas de <i>H. stigonocarpa</i>	56

3.3.3 Estrutura genética e descrição da magnitude da distribuição da variabilidade genética	59
3.3.4 Estrutura espacial nas subpopulações de <i>H. stigonocarpa</i>	60
3.3.4.1 Análises implícitas da estrutura genética espacial	61
3.3.4.2 Análises espacialmente explícitas: correlações entre matrizes genética e geográfica.....	61
3.3.4.3 Descontinuidades genéticas e seleção de áreas para conservação	62
 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	 63
4.1 Transferibilidade genética dos locos microssatélites	63
4.2 Diversidade genética dos locos microssatélites para <i>H. stigonocarpa</i>	64
4.3 Divergência genética entre as variedades botânicas de <i>H. stigonocarpa</i>	68
4.4 Estrutura Genética Populacional.....	81
4.5 Padrão Espacial da Variabilidade Genética	85
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização geográfica do bioma Cerrado no Brasil, com destaque para áreas prioritárias, levando em conta a importância biológica. Fonte: MMA (2014) – (<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado/areas-prioritarias>).....16
- Figura 2** – Árvore filogenética da tribo Detarieae, obtida por dados de sequências de DNA cloroplastidial, destacando o monofiletismo do grupo *Hymenaea*. Fonte: Bruneau et al. (2001).....23
- Figura 3** – Características gerais da espécie *H. stigonocarpa*. (A) A árvore de jatobá-do-cerrado. (B) Aspectos da casca (ritidoma). (C). Morfologia foliar. (D) A flor de *H. stigonocarpa*. (E)-(F) Seus frutos e sementes. Fonte: Fernando Tagiba (B, C, E, F), Mariana Pires de Campos Telles e Lázaro José Chaves (A e D).....26
- Figura 4** – Células da região secretora de néctar de *H. stigonocarpa*. Presença elevada de mitocôndrias e plastídeos, relacionados ao gasto energético para a produção do néctar. (A) Célula secretora duas horas antes da antese. (B). Elemento sieve (se) e célula companheira (cc). (C) Célula secretora durante a antese e formação de lacuna (*). (D) Célula secretora após duas horas da antese. Fonte: Paiva & Machado (2008).....28
- Figura 5** – Visitação de morcegos às flores de *H. stigonocarpa* e o contato de sua cabeça com as peças florais, bebendo o néctar. Fonte: Gibbs et al. (1999).....29
- Figura 6** – Detalhes do fruto de *H. stigonocarpa*. (A) Vista frontal. (B) Vista dorsal. (C) Vista lateral. (D) Vista transversal. (E) Vista longitudinal. Legenda: **ar:** arilo; **cv:** cavidade do fruto; **en:** endocarpo; **ep:** epicarpo; **me:** mesocarpo; **pd:** pedúnculo. Fonte: Botelho et al. (2000).....30
- Figura 7** – Plântula de *H. stigonocarpa*, denotando o seu início de desenvolvimento. (A) Plântula. (B) início do desenvolvimento da muda. (C) Folha composta com a presença da estípula na base. Legenda: **c:** cotilédone; **e:** epicótilo; **fo:** folíolo; **hp:** hipocótilo; **p:** protófilo; **pe:** pecíolo; **rp:** raiz primária; **rs:** raiz secundária; **rt:** raiz terciária; **st:** estípula. Fonte: Botelho et al. (2000).....32
- Figura 8** – Rede de haplótipos para *H. stigonocarpa*. Foram gerados 23 haplótipos, sendo que três haplótipos são mais comuns (círculos maiores), formando os principais grupos encontrados, Oeste, Central e Leste. Fonte: Ramos et al. (2007).....35
- Figura 9** – Áreas de amostragem de populações de *H. stigonocarpa* em regiões do Cerrado brasileiro. Os locais com duas cores diferentes indicam ocorrência em simpatria das variedades botânicas da espécie.....48
- Figura 10** – Condições de termociclagem para amplificação via PCR dos locos microsatélites. (TA – Temperatura de Anelamento).....54

- Figura 11** – Etapas de amplificação e preparo dos microsatélites para análise dos fragmentos gerados, considerando a fluorescência e a amplitude alélica de cada loco, por meio de eletroforese capilar automatizada.....55
- Figura 12** – Distribuição da frequência alélica obtida em cada loco microsatélite analisado para *H. stigonocarpa*.....67
- Figura 13** – Dendograma obtido pelo método UPGMA, utilizando como matriz de dissimilaridade a distância genética de Nei (1972) para investigar divergência genética entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa*. (L) Variedade Lisa; (PC) Variedade de Pecíolo Curto e (P) Variedade Pilosa. A correlação cofenética foi igual a 0,886. A consistência dos nós, indicada pelos números em porcentagem, foi obtida por 10.000 *bootstraps*.....75
- Figura 14** – Número do K grupos que explica o agrupamento das subpopulações das variedades de jatobá-do-cerrado, por meio do método de Evanno et al. (2005). O melhor K obtido foi K= 2.....76
- Figura 15** – Estrutura genética das 39 subpopulações de *H. stigonocarpa*, separadas de acordo com a variedade botânica pertencente. Os resultados extraídos do programa STRUCTURE 2.3.4 foram analisados no CLUMMP 1.1.2 e DISTRUCT 1.1 para a construção deste gráfico de barras. As duas cores representam os K grupos encontrados pela análise Bayesiana, em que cada linha vertical representa um indivíduo, no eixo inferior contém o nome de cada subpopulação.....78
- Figura 16** – Resultados obtidos com a análise de PCoA para as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*. (A) Gráfico com a primeira e segunda coordenada principal, mostrando como as subpopulações foram ordenadas. (B) Mapa Sintético da primeira coordenada principal, com base nos valores de F_{ST} par a par.....86
- Figura 17** – Gráfico de correlação entre a primeira coordenada principal e a longitude, considerando as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.....86
- Figura 18** – Relação entre as distâncias genética (F_{ST} par a par) e geográfica existente entre as 30 subpopulações de jatobá-do-cerrado. A correlação matricial ($rm=0,230$; $p<0,0014$) foi significativa, obtida pelo teste de Mantel com 10000 permutações aleatórias.....87
- Figura 19** – Histograma das permutações realizadas sob a hipótese nula para verificar a significância do teste de Mantel, em que 13 valores foram maiores que o valor rm observado ($rm= 0,239$; $p= 0,0014$).....87
- Figura 20** – Correlograma de Mantel a partir da matriz de F_{ST} par a par, considerando sete classes de distâncias e 10.000 permutações. Os pontos preenchidos no correlograma foram significativos ($p<0,05$), sendo que o rm global foi de 0,239 ($p= 0,0014$).....88

- Figura 21** – Correlograma médio dos valores I de Moran, obtido a partir da autocorrelação espacial das frequências alélicas dos 160 alelos existentes para *H. stigonocarpa*. A autocorrelação foi de 0,048 ($p=0,002$), calculada com 10.000 permutações.....89
- Figura 22** – Descontinuidade genética de acordo com o algoritmo de Monmonier, destacado pela seta em vermelho, plotada na rede de Gabriel a partir do resultado encontrado na PCoA com os valores de F_{ST} par a par entre as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.....93
- Figura 23** – Mapas Sintéticos com os resultados obtidos com o algoritmo Greedy para a seleção de áreas prioritárias para a conservação. (A) Destaque em preto para as 16 subpopulações que representam a riqueza alélica de *H. stigonocarpa* pelo método de complementariedade. (B) *Ranking* entre as subpopulações selecionadas, mostrando em tons mais escuros aquelas que possuem maior riqueza alélica.....94

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Espécies do gênero *Hymenaea* encontradas no Brasil, relacionadas aos biomas que elas ocorrem.....25
- Tabela 2** – Relação dos trabalhos genético populacionais existentes para *H. stigonocarpa* e os valores das estimativas genéticas encontradas. *n*: tamanho amostral; *A*: número médio de alelos encontrados; *He*: heterozigosidade média esperada; *Ho*: heterozigosidade média observada; *f*: índice de fixação; *θ*: coeficiente de coancestria; *tm*: taxa de fecundação cruzada (taxa multiloco); *nh*: número de haplótipos; *h*: diversidade haplotípica; *F_{ST}*: índice de diferenciação genética; *G_{ST}*: índice de divergência genética (esses dois índices de estruturação genética).....37
- Tabela 3** – Principais estatísticas espaciais empregadas para análise de dados genéticos.....42
- Tabela 4** – Locais de coleta de *H. stigonocarpa* e suas coordenadas geográficas, em regiões do Cerrado Brasileiro. Em cada área de coleta houve a identificação em nível de variedade botânica. (N) Número total de indivíduos em cada população.....51
- Tabela 5** – Relação dos *primers* microsatélites utilizados para análise de polimorfismo genético em *H. stigonocarpa*. Esses locos são provenientes de testes de transferibilidade de *H. courbaril* para *H. stigonocarpa*, pois ainda não existem microsatélites espécie-específicos para *H. stigonocarpa*.....53
- Tabela 6** – Esperanças matemáticas dos quadrados médios entre variedades (AV), entre subpopulações dentro de variedades (AS/WV), entre indivíduos dentro de subpopulações (AI/WS) e dentro de indivíduos (WI) segundo a análise de variância em modelo aleatório hierárquico.....58
- Tabela 7** – Caracterização dos marcadores microsatélites desenhados para *H. courbaril* e transferidos para *H. stigonocarpa*. (TA) Temperatura de anelamento, (A) Número de alelos, (*A_R*) Riqueza alélica, (*H_E* e *H_O*) Heterozigosidade esperada e observada.....63
- Tabela 8** – Relação das multiplex empregadas para análise do locos microsatélites em *H. stigonocarpa*. A montagem dessas multiplex considera a fluorescência de cada *primer* e sua amplitude alélica.....64
- Tabela 9** – Diversidade genética dos locos microsatélites utilizados para acessar a variação genética de *H. stigonocarpa*. Número de alelos (*A*); Amplitude alélica (*AM*); Heterozigosidade esperada (*H_E*) e observada (*H_O*); Coeficiente de endogamia (*f*); Probabilidade de identidade genética (*I*); Probabilidade de exclusão de paternidade (*Q*); Diferenciação genética entre as subpopulações (*F_{ST}*).....65

- Tabela 10** – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).....68
- Tabela 11** – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).....69
- Tabela 12** – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).....69
- Tabela 13** – Alelos privados existentes em cada variedade botânica de *H. stigonocarpa*.....71
- Tabela 14** – Variação genética obtida pela AMOVA para as 39 subpopulações de *H. stigonocarpa*, separadas de acordo com a variedade botânica pertencente.....72
- Tabela 15** – Variação genética obtida pelas diversas AMOVA's dos agrupamentos analisados, avaliando qual variedade botânica de *H. stigonocarpa* contribui para a maior diferenciação genética intervarietal.....80
- Tabela 16** – Variabilidade genética das 32 subpopulações de *H. stigonocarpa* por meio dos nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).....81
- Tabela 17** – Coeficientes de Coancestria obtidos para a *H. stigonocarpa* em outros trabalhos disponíveis na literatura.....83
- Tabela 18** – Descrição das classes de distâncias utilizadas para a construção do correlograma de Mantel, com 10000 permutações.....88
- Tabela 19** – Coeficiente I de Moran para cada correlograma espacial médio em cada classe de distância para as 160 frequências alélicas observada nas 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.....89
- Tabela 20** – Caracterização genética das 16 subpopulações de *H. stigonocarpa* selecionadas como prioritárias para conservação.....95

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice I - Frequência alélica dos nove locos microssatélites analisados nos 1034 indivíduos de <i>H. stigonocarpa</i>	116
Apêndice II – F_{ST} par a par obtidos entre todas as subpopulações, considerando variedade pelo programa ARLEQUIN.....	118
Apêndice III - Relação dos locos que apresentaram desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (em negrito), analisados pelo teste de Fischer, para as 32 subpopulações de <i>H. stigonocarpa</i>	121
Apêndice IV – F_{ST} par a par entre as 30 subpopulações, obtidos no programa FSTAT, utilizados para as análises de estrutura genética espacial em <i>H. stigonocarpa</i>	123
Apêndice V – Índices <i>I</i> de Moran médios calculados para as 184 frequências alélicas em <i>H. stigonocarpa</i> , para a análise de autocorrelação espacial. Os valores em negrito foram significativos ao nível de 5%.....	125

RESUMO

BRAGA, R. S. **Genética Geográfica de *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

Hymenaea stigonocarpa é uma espécie amplamente distribuída nas regiões do Cerrado brasileiro. Em função de diferenças morfológicas nas folhas, a literatura reconhece três variedades botânicas para esta espécie. Essas variedades são: *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, com folhas lisas; *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, com folhas pilosas e *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata*, apresentando pecíolo curto, com folhas lisas ou pilosas. O conhecimento da divergência genética intervartietal e análise da estrutura genética espacial é interessante para entender o comportamento dessa espécie em subpopulações naturais e como os processos microevolutivos atuam na organização da sua variabilidade genética. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o nível de diferenciação genética existente entre as variedades botânicas, a magnitude da variabilidade genética entre e dentro as subpopulações de *H. stigonocarpa*, bem como o padrão espacial da variabilidade genética encontrada. Para tanto, foram realizadas expedições de coleta em regiões do Cerrado, onde amostrou tecido foliar de 32 subpopulações de *H. stigonocarpa*, num total de 1.034 indivíduos. A variabilidade genética foi acessada por meio de nove locos microssatélites, em que todas as subpopulações foram caracterizadas geneticamente por meio das estatísticas descritivas. A divergência genética entre variedades foi avaliada com a AMOVA, técnicas de agrupamento multivariadas e inferência Bayesiana. A estrutura genética foi estimada dentro e entre as 32 subpopulações de *H. stigonocarpa*. Estatísticas espaciais foram realizadas para avaliar a existência de padrões espaciais na variabilidade genética. Além disso, análises de complementariedade genética foram utilizadas para selecionar subpopulações potenciais para conservação. Os nove locos microssatélites foram polimórficos, apresentando níveis moderados de diversidade genética. A AMOVA revelou divergência genética considerável entre as variedades botânicas e aliada às análises de agrupamento indica que a variedade *brevipetiolata* é a mais diferente geneticamente quando comparado às variedades *stigonocarpa* e *pubescens*, que formaram um único grupo. As 32 subpopulações apresentaram baixa endogamia ($f = 0,082$; $p < 0,01$), mas considerável diferenciação genética entre populações ($F_{ST} = 0,161$; $p < 0,01$) e alta endogamia total ($F_{IT} = 0,230$; $p < 0,01$). Junto à estatística R_{ST} , que foi igual a 0,221 e significativa ao nível de 1% percebe-se que a mutação e deriva genética são importantes para a estruturação genética nesta espécie. As estatísticas espaciais foram obtidas para 30 subpopulações, pois a variedade *brevipetiolata* foi fortemente diferenciada sobre as demais e assim foi retirada destas análises. O teste de Mantel mostrou uma correlação matricial baixa, porém significativa ($rm = 0,239$; $p = 0,0014$) entre distância geográfica e o F_{ST} par a par. O correlograma de Mantel identificou um padrão clinal na diferenciação genética, sugerindo que as subpopulações se comportam num modelo de isolamento por distância. A autocorrelação espacial, quantificada pelo índice I de Moran, foi baixa nas frequências alélicas entre os pares de subpopulações em cada classe de distância, gerando um correlograma médio sem padrão espacial nítido ($rm = 0,053$; $p = 0,0005$). O algoritmo de Monmonier identificou possíveis barreiras genéticas entre as subpopulações do extremo Norte do Cerrado, mas que precisam ser avaliadas com cautela. A complementariedade genética identificou 16 subpopulações que representam toda a variabilidade genética encontrada para a espécie nos locos avaliados e que foram

selecionadas como prioritárias para conservação. As informações obtidas com este trabalho mostram que as estratégias reprodutivas da espécie são importantes para a conectividade genética entre subpopulações a longas distâncias, causando uma fraca estruturação genética espacial. Assim, é sugerido que não apenas o espaço esteja atuando na diferenciação genética, mas outros processos estocásticos. Além disso, a divergência genética entre variedades botânicas torna-se um componente importante para entender a sua estrutura genética, em que este trabalho traz um conhecimento relevante para estudos taxonômicos de *H. stigonocarpa*, podendo ser mais uma evidência para delimitação de espécies.

Palavras-chave: diferenciação genética; jatobá-do-cerrado; microssatélites; padrão espacial; variedades botânicas.

ABSTRACT

BRAGA, R. S. **Geographic Genetic of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae)**. 2015. Dissertation (Master in Genetic and Molecular Biology) – Institute of Biological Science, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

Hymenaea stigonocarpa is a widely distributed species in the Brazilian Cerrado. Due to morphological differences in the leaves, the literature recognizes three botanical varieties for this species, *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, with smooth leaves; *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, with bristly leaves and *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata*, presenting short petiole and leaves either smooth or bristly. Knowledge on genetic divergence among the varieties and analyses of spatial genetic structure are valuable to understand the behavior of this species in natural subpopulations as well as microevolutionary processes acting on the organization of its genetic structure. Thus, the goal of this study was to evaluate the levels of genetic differentiation among botanical varieties, magnitude of genetic variation among and within subpopulations of *H. stigonocarpa*, as well as the genetic spatial pattern in genetic variability found. To do so, we carried out expeditions in the Brazilian Cerrado and sampled leaf material from 32 subpopulations of *H. stigonocarpa*, in a total of 1.034 individuals. Nine Microsatellite markers were used to investigate levels of genetic variability, and all subpopulations were genetically characterized using descriptive statistics. Genetic divergence among varieties was investigated through AMOVA, multivariate grouping procedures and Bayesian inference. Genetic structure was evaluated within and among all 32 subpopulations of *H. stigonocarpa*. Spatial analyses were performed to investigate spatial patterns in genetic variation. Additionally, analyses of genetic complementarity were used to select subpopulations for conservation. All nine microsatellite loci were polymorphic presenting moderate levels of genetic diversity. AMOVA revealed a genetic divergence among botanical varieties and together with clusters analyses showed strong divergence of the *brevipetiolata* variety from all other varieties *stigonocarpa* and *pubescens*, which formed a single group. All 32 subpopulations presented low endogamy ($f = 0,082$; $p < 0,01$), but presented moderate interpopulation genetic differentiation ($F_{ST} = 0,161$; $p < 0,01$) and high total endogamy ($F_{IT} = 0,230$; $p < 0,01$). Results from AMOVA together with R_{ST} statistics, which was equal to 0,221 and significant to the level of 1%, suggest that mutation and drift are influencing the genetic structure of this species. Spatial statistics were carried out using 30 subpopulations, due to the strong differentiation among the *brevipetiolata* variety and the others. Therefore, this variety was excluded from spatial analyses. Mantel test was significant, but showed a low matrix correlation ($rm = 0,239$; $p = 0,0014$) between geographic distance and pairwise F_{ST} . Mantel correlogram found a clinal pattern of genetic differentiation, suggesting that the subpopulations conform to a pattern of isolation by distance. Spatial correlation, as measured by Moran's coefficient, was low for allele frequencies between pairs of populations for all distance classes, with no clear spatial pattern ($rm = 0,053$; $p = 0,0005$). Monmonier algorithm identified possible genetic barriers among subpopulations in the extreme north region of Cerrado, but these results must be evaluated with caution. Analysis based on complementarity identified 16 subpopulations which the genetic variability of the species and were selected as priority for conservation. The information obtained in this work showed that the reproductive strategies of *H. stigonocarpa* are important genetic connectivity among subpopulations separated by long distances causing a weak spatial genetic structure. Our results suggest that not only the

space, but also other stochastic patterns are influencing the genetic structure of this species. Furthermore, genetic divergence among varieties is an important component to understand population genetic structure of this species, and this work brings relevant knowledge to taxonomic studies of *H. stigonocarpa*, may be evidence to species delimitation.

Keywords: botanical varieties; genetic differentiation; jatobá-do-cerrado; microsatellites; spatial pattern.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos principais biomas brasileiros e o segundo maior da América do Sul, representando 22% do território nacional (Ratter et al., 1997; MMA, 2014), além de abrigar uma grande diversidade biológica com muitas espécies endêmicas. Por esses e outros aspectos, foi considerado um *hotspot* prioritário para a conservação (Myers et al., 2000). Além disso, o Cerrado é uma fonte potencial de recursos naturais que fornece subsídios importantes para a sociedade e apresenta grande biodiversidade (Aquino & Aguiar, 2007).

O Cerrado apresenta mais de 10.000 espécies de plantas descritas, sendo que mais de 4.000 são endêmicas (Myers et al., 2000; Forzza et al., 2012). Entretanto, o desmatamento desenfreado deste bioma, além de outros impactos antrópicos, está reduzindo grande parte da diversidade biológica, levando à perda de hábitat das espécies e também a diminuição da variabilidade genética (Aguilar et al., 2008). Portanto, a análise da distribuição da variabilidade genética no espaço é útil para compreender como os processos microevolutivos podem influenciar na dinâmica populacional e na história evolutiva das populações e de diferentes táxons (Caballero et al., 2010). Por este motivo o Cerrado torna-se alvo de estudos que buscam avaliar e identificar padrões ecológicos e genéticos das espécies (Werneck et al., 2012).

Dentre as espécies que ocorrem no Cerrado, destacam-se as do gênero *Hymenaea* Linnaeus, pertencente à família Fabaceae (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Moreno, 2009). O nome deste gênero está relacionado com o pareamento dos dois folíolos das folhas nessas espécies (Carvalho, 2007), sendo que uma das revisões mais recentes do grupo foi realizada por Lee & Langenheim (1975) *apud* Moreno (2009). Nesta revisão, este gênero é caracterizado por apresentar 14 espécies, em que 13 delas encontram-se distribuídas pela América Central, América do Sul e uma de ocorrência na África. No Brasil, as espécies mais bem conhecidas são a *H. courbaril*, *H. martiana* e a *H. stigonocarpa*, que apresentam importância econômica para a produção de resinas e madeira.

A espécie *H. stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae), conhecida como “jatobá-do-cerrado”, é uma árvore amplamente distribuída nos biomas brasileiros, principalmente no Cerrado, encontrada com maior frequência nas fitofisionomias de cerrado e cerradão (Lima & Pinto, 2014). É uma espécie com sistema de cruzamento

misto, como observado por Gibbs et al. (1999), apresentando autocompatibilidade, porém com evidências de mecanismos de rejeição pós-zigóticos de autofecundação. Moraes et al. (2007) e Moraes & Sebbenn (2011), observaram que a maioria dos cruzamentos ocorre por fecundação cruzada, mas há também cruzamentos por autofecundação, principalmente em árvores distribuídas isoladamente.

Estão descritas três variedades para *H. stigonocarpa*: *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart., *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata* N. F. Mattos e *H. stigonocarpa* var. *pubescens* Benth. (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Pestana, 2010). Essas variedades são distinguidas por diferenças morfológicas, principalmente em relação às características foliares. A variedade *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, a variedade comum, é identificada devido à presença de folíolos lisos, ovados a elípticos com ápices agudos a arredondados; *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, tem como caráter diagnóstico os folíolos grandes e pilosos na face abaxial; *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata* apresenta como característica principal pecíolos curtos e espessos, com folíolos lisos ou pilosos. Entretanto, algumas variedades ocorrem em simpatria e outras não, com a possibilidade desta variação fenotípica ser visualizada num mesmo indivíduo, não sendo assim, tão informativa. Pestana (2010) propõe que as variedades *pubescens* e *brevipetiolata* não são consistentes e devem ser sinonimizadas. Essa variação fenotípica pode ser oriunda de mudanças ambientais, devido à ampla distribuição geográfica da espécie ao longo de todo o bioma Cerrado e até mesmo diferenças genéticas. Neste sentido, tornam-se interessantes estudos de genética de populações que buscam compreender a variação genética desta espécie, pois grande parte dos trabalhos com esta espécie ignora a sua divisão em táxons infraespecíficos.

Para isso muitas ferramentas científicas e moleculares estão disponíveis para estudos que visam verificar como a variabilidade genética está distribuída nas populações naturais, fornecendo subsídios teóricos e práticos para compreensão dos padrões encontrados (Schlötterer, 2004). Dentre estas ferramentas estão os marcadores microsatélites que conseguem acessar o polimorfismo das sequências do DNA, auxiliando em estudos de diversidade genética (Ellegren, 2004; Oliveira et al., 2006; Agarwal et al., 2008). O polimorfismo revelado por esses marcadores resulta de processos microevolutivos e funciona como indicadores da diversidade genética de uma espécie.

Assim, considerando estas informações acerca das vantagens do uso dos marcadores moleculares, em especial aos microsatélites, é possível a partir dos genótipos

e alelos encontrados verificar se a variabilidade genética está estruturada entre e dentro das populações naturais de *H. stigonocarpa*. A estruturação genética em populações de plantas deve-se principalmente à dispersão limitada de pólen e de sementes, influenciando nas taxas de fluxo gênico e a tamanhos populacionais reduzidos que levam à deriva genética (Holderegger et al., 2010). Porém, outros fatores, tais como sistema de cruzamento, isolamento geográfico, seleção natural e história demográfica, podem causar subdivisão populacional e assim à estruturação genética (Wright, 1943; Gomes & Moura, 2010).

O estudo da estruturação genética das subpopulações oferece respostas sobre a distribuição da variabilidade genética, identificando quais processos microevolutivos estão envolvidos nos padrões encontrados (Cottrell et al., 2003). Neste aspecto, características espaciais afetam, direta ou indiretamente, na organização da variação genética entre e dentro às populações, pois refletem componentes complexos e históricos numa escala espaço-temporal dos processos evolutivos (Epperson, 2003).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a variação genética de regiões microssatélites nucleares entre as subpopulações de *H. stigonocarpa*, avaliando a existência de padrões espaciais, além de investigar a divergência genética entre as suas variedades botânicas e contribuir com maiores informações sobre a dinâmica populacional da espécie, que apresenta potencial de utilização econômico e faz parte de um bioma ameaçado.

Foram determinados os seguintes objetivos específicos:

- i. Testar a transferibilidade e padronizar marcadores microssatélites polimórficos para *Hymenaea stigonocarpa*;
- ii. Verificar o nível de diferenciação genética entre as três variedades botânicas *Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, *Hymenaea stigonocarpa* var. *pubescens* e *Hymenaea stigonocarpa* var. *brevipetiolata*;
- iii. Avaliar a magnitude e a distribuição da variabilidade genética em subpopulações naturais de *Hymenaea stigonocarpa*, utilizando marcadores microssatélites;
- iv. Verificar se há uma diminuição da similaridade genética com o aumento da distância geográfica de subpopulações de *Hymenaea stigonocarpa*;
- v. Identificar áreas geográficas que apresentam maior variabilidade genética que podem ser úteis para conservação de subpopulações naturais de *Hymenaea stigonocarpa*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Cerrado

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul, atrás somente, em tamanho, da Floresta Amazônica (Werneck, 2011; Cole, 1986). A área original do Cerrado era de 2.000.000 Km², entretanto, devido à intensa fragmentação, essa extensão foi reduzida para em torno de 356. 630 Km² de áreas remanescentes (Myers et al., 2000), cerca de 20% do território original (Mews et al., 2014). Essa redução do Cerrado é decorrente das ações antrópicas, visando à implantação de sistemas de agricultura e agropecuária, facilitada principalmente pelos relevos planos e recursos hídricos, características que favorecem e aceleram a sua destruição (Ratter et al., 1997; Machado et al., 2004).

No Brasil, o Cerrado é um dos principais biomas e estende-se por toda a região central (Figura 1), nos estados de Goiás, Tocantins, Minas Gerais, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, com ocorrência em partes de São Paulo, Bahia, Maranhão, Piauí e Rondônia (Aquino & Aguiar, 2007), além de circundar outros biomas como a Caatinga e Florestas Tropicais Úmidas (Werneck, 2011).

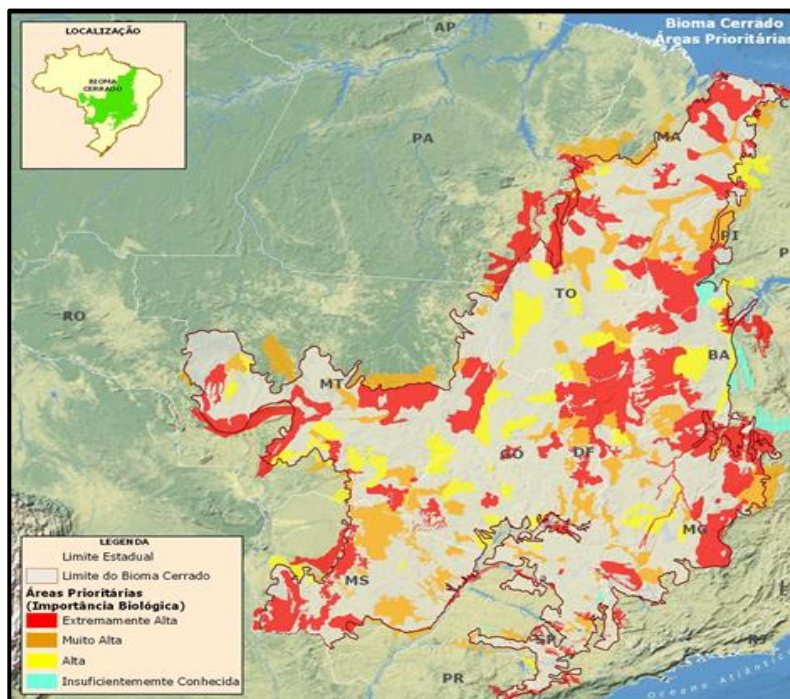


Figura 1. Localização geográfica do bioma Cerrado no Brasil, com destaque para áreas prioritárias, levando em conta a importância biológica. Fonte: MMA (2014) – (<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado/areas-prioritarias>).

O bioma Cerrado é um mosaico fitogeográfico, pois em sua extensa área apresenta heterogeneidade ambiental, em relação à composição edáfica e diferentes formações vegetais (Coutinho, 2006). Considerando essa informação, o Cerrado é caracterizado em várias fitofisionomias diferentes, que levam em conta a vegetação típica de cada uma: mata ciliar, que são formações vegetais que acompanham corpos d'água; mata de galeria, vegetação que forma corredores florestais em torno de rios de pequeno porte, diferenciando-se assim, da mata ciliar; matas secas, vegetação que apresenta caducifolia na estação seca e que não tem interação com os cursos d'água; Cerradão, com árvores tanto de mata quanto de cerrado *sensu stricto* e adaptadas a ambientes secos; cerrado *sensu stricto* (sentido restrito), com a presença de arbustos de pequeno porte e bastante retorcidos, além de herbáceas; parque de Cerrado, vegetação conhecida como murundus e que normalmente estão em locais elevados e em agrupamento; as veredas, que são formadas em ambientes úmidos e com a quantidade massiva de palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa*; campo sujo, somente plantas herbáceas e arbustivas espalhadas de forma esparsa; campo rupestre, que possui tanto vegetação herbácea e arbustos, com afloramentos rochosos; campo limpo, essencialmente caracterizado por herbáceas, circundando outras fitofisionomias, como as veredas e matas de galeria (Aquino & Aguiar, 2007).

O Cerrado é encontrado em relevos que variam de 300 m a 1600 m de altitude, o que denota sua heterogeneidade ambiental, apresentando clima bastante definido em duas estações ao longo do ano, uma seca, de maio a setembro, e outra chuvosa, de outubro a abril (Silva, 1997), com precipitação anual média de 1500 mm e temperatura anual média entre 22 °C a 27 °C (Klink & Machado, 2005). Essa característica climática estacional no Cerrado tem forte influência no crescimento da vegetação que compõe este bioma (Cole, 1986). Os tipos de solo também são fatores que influenciam e diferenciam a composição florística no Cerrado, sendo variável entre as fitofisionomias (Neri et al., 2012; Mews et al., 2014). Os solos do Cerrado normalmente são latossólicos, profundos e com baixa quantidade de nutrientes necessários às plantas, tais como potássio, fósforo e cálcio, conhecidos como solos oligotróficos e ricos em alumínio, bastante absorvido pela vegetação nativa (Neri et al., 2013). Esse excesso de alumínio está relacionado com os eventos de fogo, na época de seca, determinante para as características vegetativas do Cerrado (Neri et al., 2012).

Fatores abióticos, tais como precipitação, temperatura e características químicas dos solos são fundamentais para a grande biodiversidade existente no Cerrado (Cole, 1986; Neri et al., 2012). O Cerrado, além de ser um dos maiores biomas da América do Sul e do Brasil, também apresenta alta diversidade de espécies de animais e de plantas (Klink & Machado, 2005), considerado um bioma “*hot spot*”, devido o endemismo, com cerca de 5.000 espécies de plantas e animais endêmicas, em torno de 1,6% de todas as espécies do mundo, e a presença de muitas espécies ameaçadas de extinção (Myers et al., 2000). Considerando a composição florística do Cerrado, Mendonça et al. (2008) catalogou mais de 11.000 espécies fanerógamas nativas, abrangendo 171 famílias, com a família Fabaceae sendo a mais representativa.

Neste panorama, o Cerrado, por meio de seus recursos naturais, exibe grande potencial para uso sustentável, oferecendo vantagens na área madeireira, alimentícia e medicinal, com forte impacto na economia do país (Rondon-Neto et al., 2010; Agostini-Costa et al., 2006). Os principais usos das plantas do Cerrado estão relacionados às propriedades medicinais, com 61,2% das espécies avaliadas para este fim e a utilização de plantas lenhosas, representando 57,1%, seguido da produção alimentícia, com 32,6% (Tunholi et al., 2013). Neste mesmo estudo, diversas famílias ocorrentes no Cerrado foram registradas quanto à sua utilidade em diversas áreas, entre elas Fabaceae, Apocynaceae, Malpighiaceae, Caryocaraceae e Myrtaceae estão entre as mais citadas. Em relação às plantas medicinais, Guarim-Neto & Morais (2003) encontraram 509 espécies, distribuídas em 297 gêneros e 96 famílias, com potencialidades medicinais.

Neste contexto, percebe-se o quanto o Cerrado é um bioma importante tanto para a fauna e flora locais, e para comunidades que utilizam de seus recursos naturais. Entretanto, várias ações, como degradação do solo e de ecossistemas nativos e a inserção de espécies exóticas ameaçam as paisagens do Cerrado (Klink & Machado, 2005), pois a destruição acelerada deste bioma é devida às suas diversas características favoráveis para mecanização e instalação de infraestrutura, aumentando ainda mais as taxas de desaparecimento da vegetação do Cerrado. Assim, tornam-se necessários estudos com enfoque para a biodiversidade deste bioma.

2.2 A Família Fabaceae: com enfoque para subfamília Caesalpinioideae

A família Fabaceae é de grande interesse em estudos de sistemática taxonômica (Käss & Wink, 1996; Wojciechowski et al., 2004) e neste sentido, atualmente é aceito a classificação dessa família como Fabaceae ou Leguminosae. Nesta revisão será adotada a denominação Fabaceae, pois é a nomenclatura comumente empregada na maioria dos trabalhos com espécies dessa família. Assim, Fabaceae é considerada a terceira maior família de angiospermas, ficando atrás somente de Asteraceae e Orchidaceae, apresentando 727 gêneros e quase 20.000 espécies em todo mundo (Doyle & Luckow, 2003; Klitgaard & Bruneau, 2005; Lewis et al., 2005). O caráter unificador das espécies desta família é o fruto em forma de legume, relacionado a um único carpelo superior, com um lóculo, placentação parietal ao longo de uma sutura adaxial e óvulos múltiplos (Lewis et al., 2005). Mesmo essa característica unificadora do fruto possui diferenças entre os membros dessa família, variando de legumes de única semente, deiscentes e indeiscentes a frutos alados, com diversas estratégias de dispersão (Doyle & Luckow, 2003).

Ecologicamente esta família está distribuída em uma amplitude de habitats, encontrada desde florestas tropicais a desertos e até mesmo em ambientes montanhosos, além de espécies aquáticas (Doyle & Luckow, 2003). Também apresenta formas de vida diversificada com árvores florestais extremamente altas, plantas de porte arbustivo, lianas e herbáceas (Doyle & Luckow, 2003). Muitas espécies de fabáceas estão relacionadas ao uso e ciclagem do nitrogênio atmosférico, por meio de nodulação das raízes em simbiose com bactérias (Barberi et al., 1998; Faria & Lima, 1998; Doyle & Luckow, 2003). A fixação de nitrogênio é um dos principais processos para a manutenção da vida na terra, e esta família tem grande participação nessa atividade simbiótica (Dobereiner, 1984).

Essa família apresenta flores de diversos tamanhos, comumente pentâmeras, zigomorfas, unicarpelar e estames, sendo às vezes bastante vistosos para compensar pétalas inexprimíveis (Burkart, 1979; Tucker, 2003; Doyle & Luckow, 2003). O carpelo, junto com as outras estruturas florais, estilete, estigma se diferenciam para formar o fruto do tipo legume (Tucker, 2003). A polinização das flores normalmente acontece por zoofilia, tanto por abelhas, mariposas, aves e morcegos, além de ocorrer autopolinização. Entretanto a morfologia floral das fabáceas é bastante diversificada entre as subfamílias (Tucker, 2003).

A família Fabaceae tem importância econômica mundial, pois é considerada a segunda maior família de interesse agrônomo, atrás somente das gramíneas, cobrindo cerca de 30% da Terra, colaborando assim com a produção agrícola primária (Graham & Vence, 2003, Lewis et al., 2005). Na agricultura, as espécies desta família são a principal fonte de produção, fornecendo toneladas de grãos para subsistência alimentar, fornecendo nutrientes, tais como proteínas, carboidratos e lipídios para uma alimentação saudável (Graham & Vence, 2003; Wang et al., 2003). Além das fabáceas em grãos, muitas outras espécies são úteis para melhoramento do solo, recuperação de áreas degradadas, devido à capacidade de fixação de nitrogênio, produção de resinas e utilização na construção civil (Lewis et al., 2005).

Outra característica importante desta família é a produção de metabólitos secundários, utilizados como agentes defensivos pelas espécies, contra predação, e ao mesmo tempo podem ser empregados como compostos fitoquímicos na área medicinal, industrial e controle de pragas (Wink & Mohamed, 2003). Estes mesmos autores propuseram, que esta peculiaridade da produção de metabólitos secundários pode ser usada como marcadores taxonômicos, pois alguns compostos são específicos a certos clados, como por exemplo, ao clado Detariae que produzem terpenos, relacionados à formação de resinas (Fougère-Danezan et al., 2007).

Estudos de filogenia de Fabaceae, utilizando sequências gênicas cloroplastidiais, mostram que a família é um grupo monofilético e é dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, com quatro tribos; Mimosoideae e quatro tribos e Papilionoideae, com 28 tribos (Käss & Wink, 1996; Käss & Wink, 1997; Wojciechowski, 2003; Wojciechowski et al., 2004; Lewis et al., 2005). Mesmo a família Fabaceae apresentando monofiletismo, análises filogenéticas demonstram que a subfamília Caesalpinioideae tem ancestralidade parafilética, derivada das subfamílias Mimosoideae e Papilionoideae (Kass & Wink, 1996; Bruneau & Forest, 2001; Wojciechowski et al., 2004).

A subfamília Caesalpinioideae compreende 171 gêneros, e é dividida em quatro tribos, Cercideae, Detariae, Cassieae e Caesalpinieae, considerada um dos clados mais antigos de Fabaceae (Lewis et al., 2005). Somente as duas primeiras tribos são monofiléticas e as linhagens desse grupo tiveram um ancestral comum entre 34 a 56 milhões de anos atrás (Bruneau et al., 2008). Uma característica importante nesta subfamília é o padrão da venação foliar, o qual é um caráter fixado geneticamente (Abdel-

Hameed et al., 2013), e pode ser estabelecido como um atributo morfológico associado à variação genética.

Morfológicamente, essa subfamília possui árvores, arbustos, subarbustos, lianas e raramente herbáceas, tendo como características principais: folhas pinadas ou bipinadas, bifolioladas ou com folhas inteiras a bilobadas; cálice dialissépalo; inflorescências racemosas, panículas ou cimeiras, axilares ou terminais; flores diclamídeas ou raramente monoclamídeas; corola com prefloração imbricada ascendente, zigomorfa, actinomorfa ou assimétrica, dialipétala; estames geralmente 10, raramente menos, filetes livres entre si ou concrecidos em curto tubo, geralmente não vistosos; ovário súpero, unilocular e multiovulado (Filardi et al., 2009; Rando et al., 2013). O fruto em forma de legume, menos comumente criptolomento, criptossâmara, folículo, núcula ou sâmara; sementes de variadas formas, mais frequentemente achatadas, orbiculares e em alguns casos com pleurograma (Rando et al., 2013).

No Cerrado a família Fabaceae é a mais bem representada, tornando assim importante para a dinâmica das comunidades neste bioma (Eiten, 1972). Com 1.174 espécies e 108 gêneros, é considerada a de maior riqueza de espécies, e a sua subfamília Caesalpinioideae possui 322 espécies, distribuídas em 21 gêneros (Mendonça et al., 2008; Iglesias et al., 2011; Ishara & Maimoni-Rodella, 2012).

Dentro dessa subfamília, a tribo Detarieae compreende 82 gêneros e é a maior tribo dentro de Caesalpinioideae (Lewis et al., 2005). Vários caracteres podem ser usados para distinguir as espécies de Detarieae, tais como estruturas da anatomia lenhosa (Melandri & Pernía, 2009), assim como a produção de resina por algumas espécies dessa tribo (Fougère-Danezan et al., 2010). Muitos estudos avaliando a composição florística de Caesalpinioideae em estratos de Cerrado evidenciaram que para a tribo Detarieae os principais gêneros encontrados são *Copaifera* L e *Hymenaea* L., conhecidos popularmente por copaíba e jatobá, respectivamente (Bulhão & Figueiredo, 2002; Filardi et al., 2009; Rando et al., 2013).

Desta forma, considerando a tribo Detarieae e sua ocorrência no Cerrado, o gênero *Hymenaea* é bastante importante, pois compreende a espécie com ampla distribuição neste bioma, *H. stigonocarpa*, que além do ponto de vista biológico e ecológico, é uma espécie de potencial econômico e de subsistência.

2.3 O gênero *Hymenaea*

O gênero *Hymenaea* (Fabaceae, Caesalpinioideae, Detarieae) possui 14 espécies conhecidas, sendo que 13 estão distribuídas principalmente na região Neotropical, estendendo-se do México à Argentina e uma com ocorrência na costa oriental da África, conhecida como *H. verrucosa* (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Lewis et al., 2005). Este gênero teve origem no continente africano, expandindo-se para a região Atlântica no período Terciário, relacionada com os padrões de disjunção dos continentes naquele tempo e teve na região Neotropical o centro de diversificação do gênero, especificamente na Amazônia (Langenheim et al., 1973).

O nome genérico *Hymenaea* é derivado do grego e faz referência ao deus do casamento Himeneu, em relação aos dois folíolos pareados das folhas (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Lewis et al., 2005). Este táxon é intimamente relacionado aos gêneros de origem africana *Guibourtia*, (Langenheim et al., 1973) e ao *Trachylobium*, com similaridade morfológica entre *Hymenaea* (Langenheim & Lee, 1974), em que estes, provavelmente, evoluíram do gênero extremamente diverso *Cynometra* (Langenheim et al., 1973), surgindo interesse em estudos biogeográficos e evolutivos. No Novo Mundo, a espécie *H. oblongifolia* é o centro primitivo para evolução do gênero (Langenheim et al., 1973). As espécies que compreendem este gênero são denominadas popularmente como “algarrobo”, “guapinol”, “jutaí”, “locust” e “jatobá”, variando de acordo com a distribuição geográfica (Lewis et al., 2005; Pestana, 2010).

Considerando as informações acerca das plântulas de *Hymenaea*, as espécies que compõem este gênero são alocadas em dois grandes grupos, referentes ao tipo de ambiente: espécies que vivem em florestas sempre verdes e aquelas de habitats mais secos, tipo savânicos (Langenheim et al., 1973). Essa divisão feita por estes autores, levando em conta a morfologia de plântulas e o ambiente em que vivem, é útil para correlações entre a história de vida do grupo e sua evolução (Gurgel et al., 2012).

A produção de resinas é uma das características marcantes deste gênero (Langenheim et al., 1978; Langenheim et al., 1982), que além das inúmeras utilidades deste produto bioquímico, funciona como um metabólito secundário às espécies, pois age contra herbivoria, tornando um agente de defesa contra ataques de microrganismos e insetos (Langenheim, 1984). A produção de resinas no grupo é tão importante que estimulou uma série de estudos para compreensão do gênero *Hymenaea*, motivados pela

descoberta de resinas fósseis em âmbar no México, Colômbia e Brasil em depósitos do Terciário (Langenheim, 1969). Fougère-Danezan et al., (2007) estudaram as relações filogenéticas da tribo Detarieae entre as espécies produtoras de resinas e identificaram o monofiletismo do gênero *Hymenaea*, a partir de análises de regiões cloroplastidiais, denotado pela formação de um clado. O monofiletismo do grupo *Hymenaea* (Bruneau et al., 2001) também foi encontrado por outros autores, inserindo-o no clado monofilético de Detarieae (Figura 2).

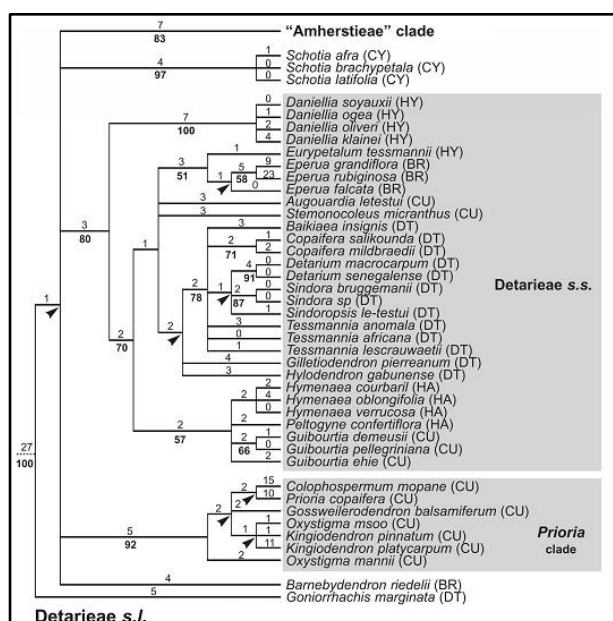


Figura 2 – Árvore filogenética da tribo Detarieae, obtida por dados de sequências de DNA cloroplastidial, destacando o monofiletismo do grupo *Hymenaea*. Fonte: Bruneau et al. (2001).

O reconhecimento do gênero pode ser feito por meio de alguns caracteres diagnósticos, tais como folhas bifolioladas, flores relativamente grandes, presença de pétalas, frutos robustos, lenhosos e indeiscentes (Queiroz, 2009). As flores podem ser pentâmeras, actinomorfas, com coloração das pétalas de branca a creme, raramente vermelhas, possuem antese noturna e liberam fortes odores que estão relacionados aos mecanismos de polinização, pois algumas espécies são polinizadas por morcegos e são atraídas por estes cheiros (Queiroz, 2009; Rando et al., 2013). A polinização ocorre também por abelhas, mariposas e alguns pássaros (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Moreno, 2009).

O sistema de acasalamento é predominantemente por alogamia, com espécies exibindo autoincompatibilidade, como no caso de *H. courbaril* (Lacerda et al., 2008),

porém há cruzamentos por autofecundação, como percebido para *H. stigonocarpa* (Gibbs et al., 1999; Moraes & Sebbenn, 2011). No contexto citogenético, o número cromossômico de todas as espécies do gênero é $2n=24$ (Bandel, 1974; Langenheim & Lee, 1974). O número cromossômico é semelhante a outras espécies de caesalpiníoides, que obtiveram cariótipo de $2n= 24, 26$ e 28 , por exemplo, *Senna multijuga*, *Peltophorum dubium*, *Bauhinia forficata*, respectivamente (Biondo et al., 2005).

Espécies do gênero *Hymenaea*, junto com outros táxons são árvores comuns ao Cerrado, integrando a composição florística deste bioma (Eiten, 1972) e dentre as espécies de *Hymenaea* localizadas no Brasil, destacadas na Tabela 1, *H. courbaril* e *H. stigonocarpa* são muito estudadas, pois têm ampla distribuição no país e ambas são encontradas no bioma Cerrado (Lima & Pinto, 2014). Essas espécies são fontes potenciais em diversas áreas de biologia, ecologia, bem como recursos biológicos importantes para a economia local e por isso destacam entre as espécies arbóreas de fabáceas (Graham & Vence, 2003). O uso de frutos e sementes de *Hymenaea* spp., para diversos fins é datado desde a Amazônia pré-histórica e a colonização das Américas (Roosevelt et al., 1996). Neste sentido, faz-se necessário pesquisar, avaliar e verificar como as populações dessas espécies se comportam ao longo do tempo e no ambiente em que vivem.

Tabela 1 – Espécies do gênero *Hymenaea* encontradas no Brasil, relacionadas aos biomas que elas ocorrem.

Espécie	Variedades	Distribuição geográfica
<i>Hymenaea aurea</i> Lee & Lang.	sem ocorrência	Mata Atlântica
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	<i>H. courbaril</i> var. <i>courbaril</i> , <i>H. courbaril</i> var. <i>altissima</i> , <i>H. courbaril</i> var. <i>longifolia</i> , <i>H. courbaril</i> var. <i>stilbocarpa</i> , <i>H. courbaril</i> var. <i>subsessilis</i> e <i>H. courbaril</i> var. <i>villosa</i>	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Pantanal e Mata Alântica
<i>Hymenaea eriogyne</i> Benth.	sem ocorrência	Caatinga e Cerrado
<i>Hymenaea intermedia</i> Ducke	<i>H. intermedia</i> var. <i>intermedia</i> e <i>H. intermedia</i> var. <i>adenotricha</i>	Amazônia
<i>hymenaea maranhensis</i> Lee & Lang.	sem ocorrência	Cerrado
<i>Hymenaea martiana</i> Hayne	sem ocorrência	Cerrado, Caatinga, e Mata Atlântica
<i>Hymenaea oblongifolia</i> Huber	<i>H. oblongifolia</i> var. <i>oblongifolia</i> , <i>H. oblongifolia</i> var. <i>latifolia</i> e <i>H. oblongifolia</i> var. <i>palustres</i>	Amazônia e Mata Atlântica
<i>Humenaea parvifolia</i> Huber	sem ocorrência	Amazônia
<i>Hymenaea reticulata</i> Ducke	sem ocorrência	Amazônia
<i>Hymenaea rubriflora</i> Ducke	<i>H. rubriflora</i> var. <i>rubriflora</i> e <i>H. rubriflora</i> var. <i>glabra</i>	Mata Atlântica
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	<i>H. stigonocarpa</i> var. <i>stigonocarpa</i> , <i>H.stigonocarpa</i> var. <i>brevipetiolata</i> e <i>H. stigonocarpa</i> var. <i>pubescens</i>	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Pantanal
<i>Hymenaea velutina</i> Ducke	sem ocorrência	Caatinga e Cerrado

Fonte: Lima & Pinto (2014) – Lista de espécies da Flora do Brasil (REFLORA - <http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do>)

2.4 A ESPÉCIE *Hymenaea stigonocarpa*

2.4.1 Aspectos Botânicos

Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne, Figura 3, tem a seguinte posição taxonômica (Carvalho, 2007):

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)

Ordem: Fabales

Família: Fabaceae (Leguminosae)

Subfamília: Caesalpinioideae

Tribo: Detarieae

Subtribo: Detariinae

Gênero: *Hymenaea*

Espécie: *Hymenaea stigonocarpa*

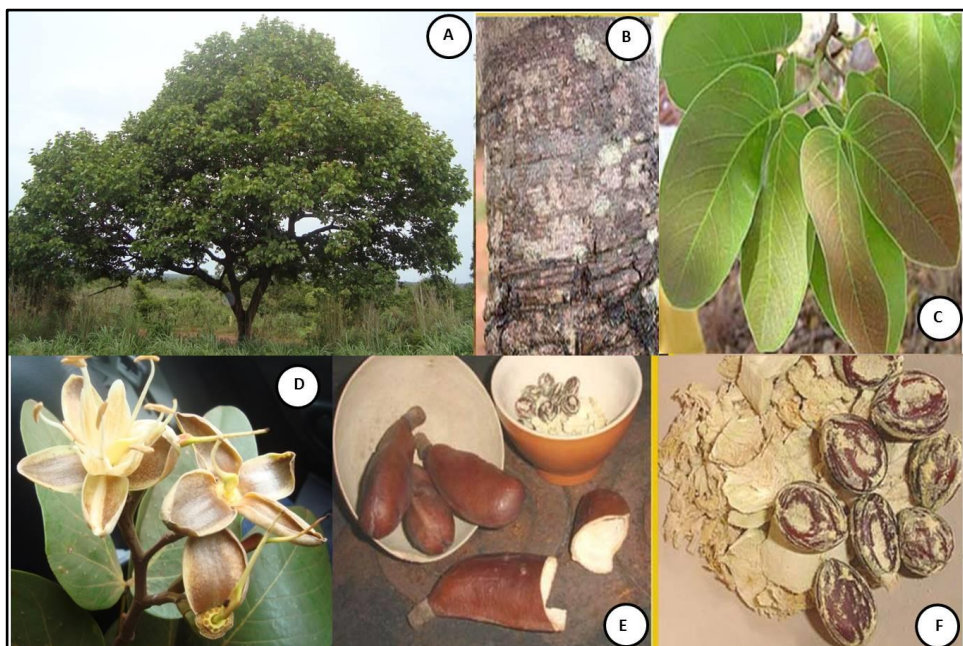


Figura 3 – Características gerais da espécie *H. stigonocarpa*. (A) A árvore de jatobá-do-cerrado. (B) Aspectos da casca (ritidoma). (C). Morfologia foliar. (D) A flor de *H. stigonocarpa*. (E)-(F) Seus frutos e sementes. Fonte: Fernando Tagiba (B, C, E, F), Mariana Pires de Campos Telles e Lázaro José Chaves (A e D).

É uma espécie comumente conhecida como jatobá-do-cerrado, mas possui diversos nomes populares, tais como jatobá, jatobá-capão, jatobá-da-casca-fina, jatobá-açu, jatobeiro, jatobá-do-campo, jataí-de-piauí, jatobá-de-vaqueiro, jataí, jataicica e jatobai, reconhecidos de acordo com a localidade geográfica (Carvalho et al., 2007). *H. stigonocarpa* é amplamente distribuída no Brasil, com ocorrência nos estados do Pará, Bahia, Ceará, Maranhão, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo, encontrada principalmente em domínios fitogeográficos de Cerrado, em formações abertas e campo cerrado (Carvalho, 2007; Lima & Pinto, 2014).

É uma espécie arbórea que pode atingir cerca de 20 m de altura, com árvores decíduas com ramos glabros a pubescentes, podendo chegar a 50 cm de DAP (diâmetro na altura do peito, com 1,30 m do solo), com troncos tortuosos e ramificação da copa dicotômica (Carvalho, 2007). A morfologia foliar apresenta limbo com cerca de 30 cm de comprimento, que pode ser liso ou piloso, folhas compostas e bifolioladas, alternas, pecioladas, variando de 0,9 a 1,9 cm de comprimento e os peciólulos dos folíolos de 0,25 a 0,6 cm de comprimento (Carvalho, 2007; Rando et al., 2013).

Em relação às características florais essa espécie possui inflorescência do tipo cimeira terminal com brácteas, de poucas a 30 flores, que vão do branco ao creme (Almeida et al., 1998). Suas flores são grandes pediceladas a subsésseis, cálice 5-partido, com presença de sépalas ovais e elípticas; corola alva, actinomorfa e pentâmera; estames livres, em número de 10, filetes longos, anteras parietais; ovário súpero, unilocular, com estruturas nectárias (Almeida et al., 1998). Os nectários florais em *H. stigonocarpa* são formados pela epiderme interna do hipanto, junto com o parênquima vascularizado e o lançamento do néctar provavelmente ocorre via estômatos (Paiva & Machado, 2008). Neste mesmo trabalho, foram evidenciadas altas populações de plastídeos e mitocôndrias, que podem ser relacionadas à produção de néctar e necessidades energéticas para hidrólise do amido (Figura 4).

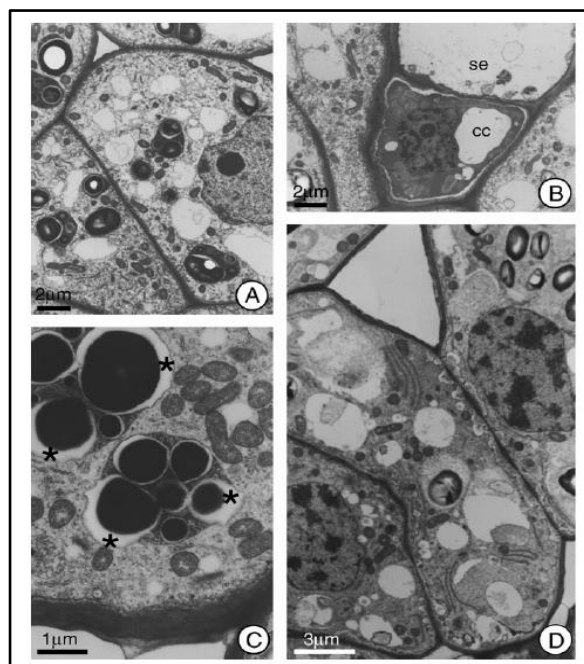


Figura 4 – Células da região secretora de néctar de *H. stigonocarpa*. Presença elevada de mitocôndrias e plastídeos, relacionados ao gasto energético para a produção do néctar. (A) Célula secretora duas horas antes da antese. (B). Elemento sieve (se) e célula companheira (cc). (C) Célula secretora durante a antese e formação de lacuna (*). (D) Célula secretora após duas horas da antese. Fonte: Paiva & Machado (2008).

Em espécies do gênero *Hymenaea* é comum a presença de estruturas secretoras, que estão relacionadas com a secreção nectarífera e cavidades secretórias de resinas (Langenheim et al., 1981). Neste contexto, foi verificada pela primeira vez a presença de nectários extraflorais em *H. stigonocarpa* nas folhas e ápice caulinar, responsáveis pela produção de substâncias resinosas e mucilaginosas, referentes à proteção da planta contra predadores (Paiva & Machado, 2006). A polinização das flores de *H. stigonocarpa* é realizada por no mínimo quatro espécies de morcegos (Figura 5), incluindo a espécie nectarívora *Glossophaga soricina*, considerada especializada, pois entra em contato direto com as anteras e estigmas das flores, além de visitas de outros vetores polinizadores como os esfingídeos (Gibbs et al., 1999). A zoocoria é a síndrome de dispersão de sementes predominante em *H. stigonocarpa*, realizada por mamíferos e a avifauna (Gibbs et al., 1999; Costa et al., 2004; Carvalho, 2007).

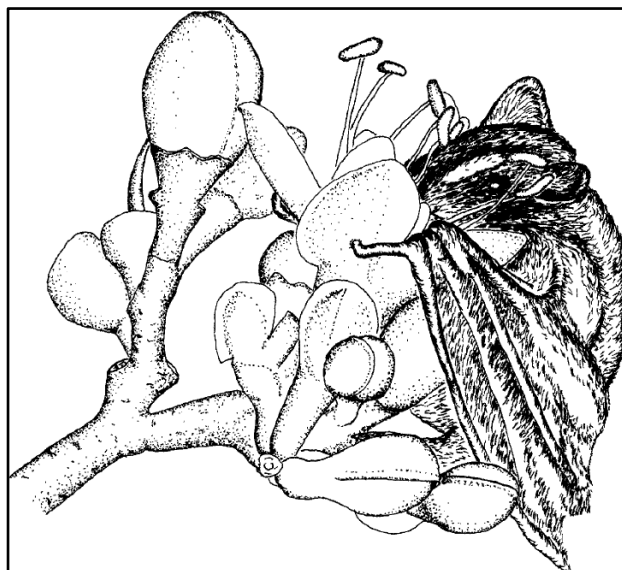


Figura 5 – Visitação de morcegos às flores de *H. stigonocarpa* e o contato de sua cabeça com as peças florais, bebendo o néctar. Fonte: Gibbs et al. (1999).

Os frutos são legumes secos, indeiscentes, com morfologia oblongóide, crasso, com coloração externa de castanho-avermelhado, com pedúnculo formado pelo cálice, comumente poliespérmico; pericarpo lenhoso e resistente, epicarpo, mesocarpo e endocarpo, relacionado à polpa farinácea, com semente globosa, envolvendo a parte comestível do fruto, que é destacado na Figura 6 (Botelho et al., 2000; Carvalho, 2007). A floração e a frutificação ocorrem em períodos diferentes e varia de acordo com a região geográfica, mas geralmente a floração inicia-se em outubro a abril, mais intensamente entre dezembro a março e a frutificação de maio a julho (Almeida et al., 1998).

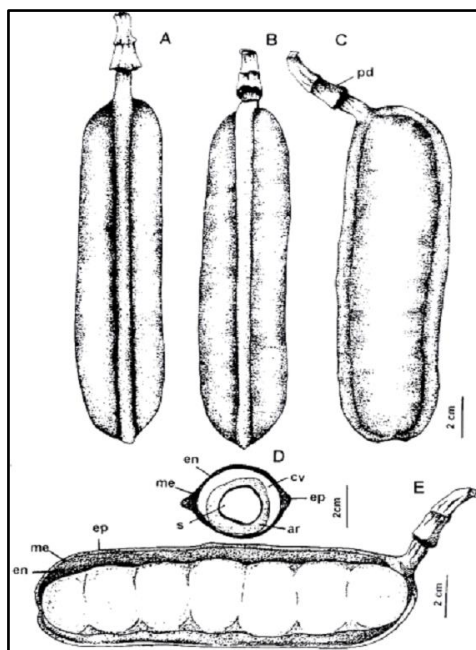


Figura 6 – Detalhes do fruto de *H. stigonocarpa*. (A) Vista frontal. (B) Vista dorsal. (C) Vista lateral. (D) Vista transversal. (E) Vista longitudinal. Legenda: **ar**: arilo; **cv**: cavidade do fruto; **en**: endocarpo; **ep**: epicarpo; **me**: mesocarpo; **pd**: pedúnculo. Fonte: Botelho et al. (2000).

2.4.2 Aspectos Ecológicos

A espécie *H. stigonocarpa* é considerada vicariante de *H. courbaril* var. *stibolcarpa*, pois são espécies que compartilham hábitos de vida semelhantes e ambas podem ser encontradas no mesmo bioma, o Cerrado. Além disso, passaram por processos de colonização semelhantes durante mudanças climáticas do Quaternário (Ramos et al., 2009). Estão descritas três variedades para *H. stigonocarpa*: *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart., *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata* N. F. Mattos e *H. stigonocarpa* var. *pubescens* Benth. (Lee & Langenheim, 1975 *apud* Pestana, 2010). Essas variedades são distinguidas por diferenças morfológicas, principalmente em relação às características foliares. A variedade *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, tem como caráter diagnóstico os folíolos grandes e pilosos na face abaxial; *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata* apresenta como característica principal pecíolos curtos e espessos; *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, a variedade comum é identificada pela forma de seus folíolos (Pestana, 2010). Este mesmo autor revisou aspectos taxonômicos de três espécies de *Hymenaea*, incluindo as variedades de *H. stigonocarpa* e afirma que é difícil a identificação das subespécies apenas com as diferenças morfológicas e sugere que essas variedades sejam sinonimizadas.

O sistema de reprodução prevalente em *H. stigonocarpa* é a alogamia, como observado por Gibbs et al. (1999), apresentando autocompatibilidade, entretanto há evidências de mecanismos de rejeição pós-zigóticos de autofecundação. Moraes et al. (2007) e Moraes & Sebbenn (2011), observaram que a maioria dos cruzamentos é por fecundação cruzada, mas ocorre também autofecundação, principalmente em árvores distribuídas isoladamente. Assim, é mais coerente assumir que esta espécie possui sistema de cruzamento misto.

A temperatura é um fator climático importante à dinâmica de crescimento de *H. stigonocarpa*, já que ela ocorre em regiões mais secas do Cerrado, com maior incidência de luz solar, enquanto que para *H. courbaril* a precipitação tem maior influência (Locosselli et al., 2013). O crescimento do jatobá-do-cerrado em plantio controlado é lento com duração de nove anos para atingir o tamanho em torno de 1,5 m e o fogo é um agente determinante no crescimento em altura e na sua ramificação (Sano & Fonseca, 2003). Além disso, *H. stigonocarpa* é uma espécie que consegue crescer e sobreviver em solos desprovidos de nutrientes, mesmo com baixa associação à micorrizas (Faria et al., 2013).

Esta espécie ocorre em diferentes formações de Cerrado com densidade populacional considerável (Pinto et al., 2009), desde árvores isoladas à formação de grandes populações, em que há formação de reboleiras, com dois a 29 indivíduos por agrupamento e densidade populacional de 0,1 indivíduo por hectare (Defavari et al., 2009). Este autor discute que agrupamentos em reboleiras são associados à propagação vegetativa, fato este possível para *H. stigonocarpa* com a existência de gemas vegetativas nas plântulas (Botelho et al., 2000). Sua madeira é de alta densidade, atingindo aproximadamente $0,90 \text{ g.cm}^{-3}$ e por isso é caracterizada como uma espécie secundária tardia (Carvalho, 2007).

A germinação das sementes de *H. stigonocarpa* é do tipo epígea fanerocotiledonar (Botelho et al., 2000). O tamanho e a massa das sementes influenciam no tempo de germinação, em que sementes maiores emitem primeiramente a raiz primária, entretanto a massa das sementes não garante que todo o processo de germinação é concluído, quando caracterizado pela saída do eófilo (Pereira et al., 2011). A caracterização das plântulas (Figura 7) de *H. stigonocarpa* foi detalhada por alguns estudos, visto que as atribuições deste estágio podem ser padrões delimitadores entre os táxons infraespecíficos dessa espécie e podem auxiliar na identificação dos mesmos (Botelho et al., 2000; Ramos et al., 2003; Kodoma & Sartori, 2007). Kodoma & Sartori

(2007) avaliaram as plântulas de duas variedades *H. stigonocarpa*, *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa* e *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata* e constataram que há diferenças nos estágios iniciais das plântulas, em relação aos cotilédones, hipocótilo e eófilos, fornecendo informações com potencial taxonômico.

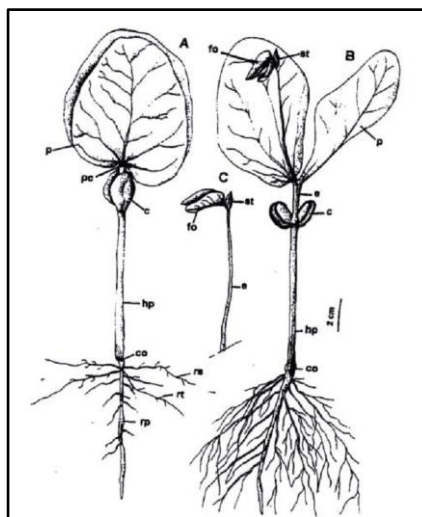


Figura 7 – Plântula de *H. stigonocarpa*, denotando o seu início de desenvolvimento. (A) Plântula. (B) início do desenvolvimento da muda. (C) Folha composta com a presença da estípula na base. Legenda: **c:** cotilédone; **e:** epicótilo; **fo:** folíolo; **hp:** hipocótilo; **p:** protófilo; **pe:** pecíolo; **rp:** raiz primária; **rs:** raiz secundária; **rt:** raiz terciária; **st:** estípula. Fonte: Botelho et al. (2000).

A dispersão zoocórica, formação de gemas vegetativas e resistência a solos pobres em nutrientes são fatores que tornam *H. stigonocarpa* uma espécie de utilidade para regeneração florestal (Neri et al., 2005; Neri et al., 2011). Atualmente, o desmatamento da vegetação natural do Cerrado e de outros ecossistemas é frequente, assim a recuperação florestal destas áreas se torna necessária e a espécie em questão é ecologicamente importante, pois tem potencialidade de regeneração de áreas degradadas.

2.4.3 Aspectos Bioquímicos

A maioria das espécies de plantas produzem compostos bioquímicos, tais como os compostos secundários, que possuem diversas funções na sobrevivência destes organismos (Langenheim, 1984; Wink & Mohamed, 2003). Compostos fenólicos, alcaloides, terpenos são químicos bastante estudados nos trópicos, principalmente considerando seus aspectos ecológicos (Langenheim, 1984). Neste sentido, *H. stigonocarpa* destaca-se na produção de terpenos, relacionados à composição da resina,

polissacarídeos, flavonoides e metanol (Langenheim & Hall, 1983; Kai & Petkowicz, 2010; Maranhão et al., 2013; Orsi et al., 2014).

A capacidade de *H. stigonocarpa* e outras espécies do gênero de produzir resinas, fez com que muitos estudos nesta área fossem realizados (Langenheim, 1969). A resina, conhecida como jutaica (Botelho, 1993), é produzida pelas folhas e caule de *H. stigonocarpa*, formando pacotes de resina que são constituídos de terpenos (Martin & Langenheim, 1976). Compostos terpenos formam um grupo de produtos naturais numerosos e diversos, agindo em diferentes aspectos biológicos e químicos das plantas (Thimmappa et al., 2014). Uma pequena fração de sesquiterpenos é constituinte da resina de jatobá-do-cerrado e fatores ambientais, como a luz UV, por exemplo, podem influenciar na composição química deste produto natural, com mudanças ao longo do envelhecimento da planta (Doménch-Carbó et al., 2009). A resina que é constituída de isótopos de carbono, oxigênio e hidrogênio torna-se útil para estudos biogeoquímicos e para compreensão de ambientes aquáticos antigos (Nissenbaum et al., 2005).

A madeira de *H. stigonocarpa* apresenta uma diversidade de flavonoides que tem atividade antioxidante, antitermítica, o que a caracteriza como resistente à biodegradação e consequentemente útil para a indústria madeireira (Maranhão et al., 2013). A presença de metanol na casca da árvore possui atividade anti-inflamatória, que pode ser aplicada na área medicinal (Orsi et al., 2014). A semente desta espécie tem alto teor de fibras (85,31 %), constituída de xiloglucanas, galactomananas, mas pobre em macronutrientes como as proteínas (9,05 %) e os lipídios (5,30%), e com a presença de compostos fenólicos, considerados antinutricionais, o que a difere entre às outras fabáceas (Matuda & Maria-Netto, 2005). Os aspectos bioquímicos de *H. stigonocarpa* são relevantes, pois são fatores que influenciam em questões taxonômicas, como a produção de resinas, além de representar produtos naturais que podem ser utilizados em muitas áreas da ciência e aplicados à sociedade.

2.4.4 Potencial de Utilização Econômica

H. stigonocarpa é uma espécie com significativo valor econômico, utilizada para diversos fins sociais, como recurso alimentar, medicinal e apícola (Rondon-Neto et al., 2010; Pereira et al., 2012). A distribuição ampla em ambientes de Cerrado faz com que o jatobá-do-cerrado tenha potencial econômico, como um recurso natural, para as

populações que vivem deste bioma (Faria et al., 2006). Na área alimentícia, o jatobá-do-cerrado é muito empregado para a produção de farinha, já que sua semente é envolta pelo arilo, amarelo-esverdeado, macio e com sabor doce, formando a polpa farinácea (Chang et al., 1998; Carvalho, 2007). A farinha de *H. stigonocarpa* é uma alternativa para a fabricação de biscoitos tipo “cookies” e fornece quantidade considerável de fibras (Silva et al., 1999). A farinha também pode ser adicionada, junto à farinha de trigo e substituir o açúcar, tornando uma fonte alimentar mais saudável (Silva et al., 2001).

Na área medicinal o jatobá-do-cerrado é usado como depurativo, anti-inflamatório, estimulante de apetite e fonte rica em ferro, deste modo é bastante citado pelos moradores locais entre as espécies medicinais do Cerrado mais utilizadas (Guarim-Neto & Moraes, 2003; Souza & Felfili, 2006). Tanto a casca e a polpa do fruto de *H. stigonocarpa* tiveram efeitos antidiarreico, proteção gástrica e cicatrizante que podem ser associados com flavonoides, taninos e ação antioxidante presentes nestes componentes da planta (Orsi et al., 2012; Orsi et al., 2014). A resina produzida por esta espécie é usada tanto na área medicinal como para produção de vernizes e tinturaria (Carvalho & Pareja, 2007).

A madeira com características serrada, roliça, dura e resistente torna-se um potencial na construção civil e naval, empregada na fabricação de postes, cercas e fornecimento de lenha de boa qualidade (Almeida et al., 1998; Carvalho, 2007). A qualidade da madeira é relacionada à produção de flavonoides que têm efeito contra predação de cupins o que faz com que seja muito apreciada para os fins madeireiros. Também é uma espécie que é utilizada para a recuperação de áreas degradadas, bem como para ornamentação de praças e parques (Carvalho, 2007). Neste contexto, percebe-se o quanto a espécie *H. stigonocarpa* é um recurso natural fundamental em vários aspectos econômicos e assim estudos que levem em conta todo esse potencial devem ser feitos para a compreensão da dinâmica populacional desta espécie.

2.4.5 Aspectos Genéticos Populacionais

Muitos trabalhos de genética de populações foram feitos com *H. stigonocarpa*, levando em conta principalmente a estruturação genética desta espécie, destacados na Tabela 2. Em um estudo de filogeografia de jatobá-do-cerrado, utilizando a sequência cloroplastidial não codificante *psbC/trnS3*, identificaram 23 haplótipos (Figura 8) para as

populações avaliadas e associação entre a rede de haplótipo e a distribuição geográfica, evidenciado pela formação de três grupos principais, Oeste, Central e Leste (Ramos et al., 2007).

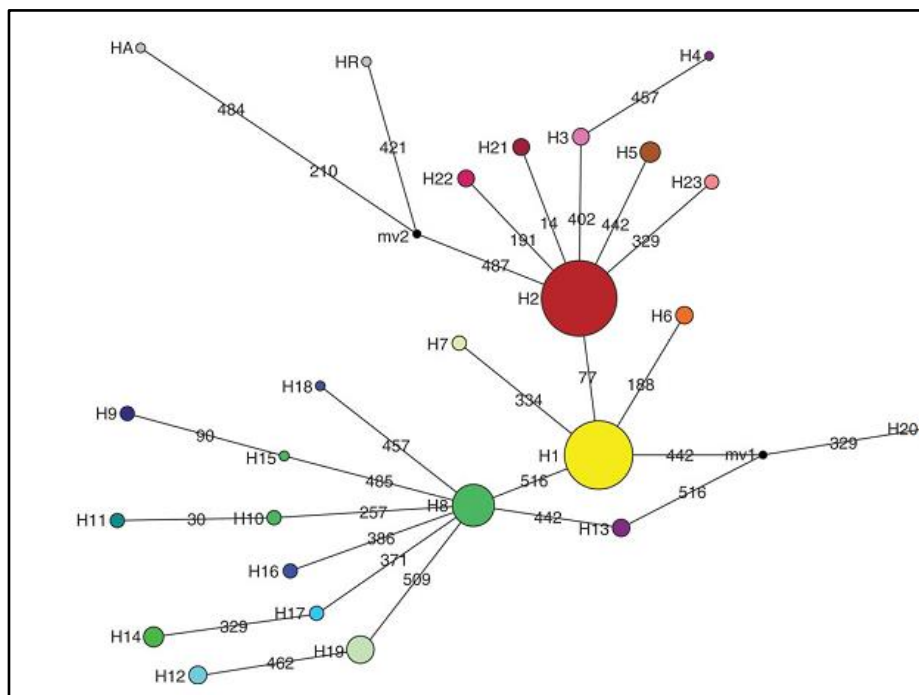


Figura 8 – Rede de haplótipos para *H. stigonocarpa*. Foram gerados 23 haplótipos, sendo que três haplótipos são mais comuns (círculos maiores), formando os principais grupos encontrados, Oeste, Central e Leste. Fonte: Ramos et al. (2007).

Estes autores afirmam que essa subdivisão geográfica não está associada às variedades existentes de *H. stigonocarpa*, pois há sobreposição dessas subespécies nas áreas coletadas, mas sugerem que isso advém de fatores históricos evolutivos, ligados às mudanças climáticas da época do Quaternário e que a colonização das áreas do Cerrado foi feita por diversas linhagens. Em outro estudo comparativo entre a estrutura filogeográfica de *H. courbaril* var. *stibolcarpa* com sua vicariante *H. stigonocarpa* foi proposto que eventos glaciais influenciaram na distribuição destas espécies e a recolonização ocorreu com várias linhagens, após a amenização do clima. Assim, os dados obtidos mostraram que há compartilhamento de haplótipos e similaridade genética, pressupondo a existência de polimorfismo ancestral entre essas vicariantes (Ramos et al., 2009).

A estrutura espacial de *H. stigonocarpa*, avaliada por meio de microssatélites cloroplastidiais em populações do estado de São Paulo, constatou uma diversidade haplotípica moderada e efeito fundador, portanto deve ser levada em conta, para fins de

conservação, a distância da coleta de sementes entre árvores maternas de no mínimo 75 m (Moreno et al., 2009). Defavari et al. (2009) também analisaram a estrutura genética da espécie em foco, utilizando marcadores alozímicos e verificaram a ocorrência de endogamia e indivíduos com genótipos idênticos, provavelmente devido à propagação vegetativa. Dessa maneira, há uma estruturação genética espacial por irmãos-completos até 2 m de distância, sugerida por um baixo fluxo gênico e efeito fundador.

O sistema de cruzamento foi verificado por Moraes et al. (2007) e Moraes & Sebbenn (2011), utilizando marcadores microssatélites. Os resultados encontrados indicam alta taxa de fecundação cruzada, entretanto houve cruzamentos por autofecundação e também cruzamentos entre aparentados, que podem ter sido favorecidos pela pequena distância entre os coespecíficos e à polinização sistemática de árvores próximas (Moraes et al., 2007). As análises de dispersão de pólen demonstram que em *H. stigonocarpa* o pólen é levado por mais de 7000 m e por isso, árvores isoladas não são isoladas reprodutivamente, porém esse isolamento favorece o aumento da taxa de autofecundação (Moraes & Sebbenn, 2011). Neste mesmo trabalho, a endogamia foi causada por autofecundação, representando 30% e 70% devido aos cruzamentos entre indivíduos aparentados.

Os marcadores microssatélites disponíveis para *H. stigonocarpa* são provenientes de amplificação cruzada de *primers* desenhados especificamente para *H. courbaril* (Buonamici et al., 2008; Ciampi et al., 2008; Braga et al., 2014), ou seja, ainda são inexistentes marcadores microssatélites específicos para *H. stigonocarpa*, tornando-se uma área de estudo e aplicação para espécie. Isso é uma informação relevante, pois locos microssatélites oriundos de transferibilidade apresentam diversidade genética reduzida, devido à conservação das regiões nucleotídicas entre espécies aparentadas (Oliveira et al., 2006). Dessa maneira, regiões microssatélites específicas para *H. stigonocarpa* podem informar um grau de diversidade genética ainda maior do que já encontrado para esta espécie com a utilização de *primers* transferidos.

Esta espécie foi caracterizada com $2n=24$, assim como obtido para outras espécies do gênero e da família (Bandel, 1972; Forni-Martins et al., 1995), favorecendo estudos na área genômica. Estes estudos genéticos são bastante importantes para o delineamento de estratégias de conservação e planejamento de coleta de germoplasma da espécie, sendo necessários mais estudos que possam avaliar a estrutura genética da espécie, levando em conta suas variedades e maior *range* geográfico.

Tabela 2 – Relação dos trabalhos genético populacionais existentes para *H. stigonocarpa* e os valores das estimativas genéticas encontradas. *n*: tamanho amostral; *A*: número médio de alelos encontrados; *He*: heterozigosidade média esperada; *Ho*: heterozigosidade média observada; *f*: índice de fixação; θ : coeficiente de coancestria; *tm*: taxa de fecundação cruzada (taxa multiloco); *nh*: número de haplótipos; *h*: diversidade haplotípica; F_{ST} : índice de diferenciação genética; G_{ST} : índice de divergência genética (esses dois índices de estruturação genética).

Marcadores moleculares utilizados	<i>n</i>	<i>A</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>f</i>	θ	<i>tm</i>	Referência
Alozímicos	69	1,80	0,264	0,236	0,106*	0,250*	–	Defavari et al. (2009)
Microsatélites nucleares	40	6,43	0,601	0,389	0,355	–	–	Ciampi et al. (2008)
Microsatélites nucleares	310	11,67	0,633	0,377	0,404*	0,157*	(0,873) – (0,857)**	Moraes et al. (2007)
Microsatélites nucleares	208	10,30	0,666	0,530	(-0,037) – (0,244)***	(0,173) – (0,225)***	(0,888) – (0,874)***	Moraes et al. (2011)
Cloroplastidiais	<i>n</i>	<i>nh</i>	<i>h</i>	F_{ST}	G_{ST}	Referência		
<i>psbC</i> e <i>trnS</i>	175	23	0,54	0,692*	–	Ramos et al. (2007)		
Microsatélites	115	7	0,667	–	0,660*	Moreno et al. (2009)		

Legenda: *: P-valor significativo; **: Valores para árvores em população e árvores isoladas, respectivamente; ***: Valores para árvores em população e progênies, respectivamente.

2.5 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES POR MARCADORES MOLECULARES

A delimitação de espécies exige não só ferramenta científica para propor novas classificações, mas depende de conceitos ecológicos, botânicos e filogenéticos. Por causa disso é necessário tomar por base o conceito de espécies, tarefa nada fácil, devido a gama de conceitos existentes (Minder & Wimer, 2008). Um dos mais conhecidos e admitidos pela comunidade científica consiste de que espécies são aquelas que cruzam entre si e são isoladas reprodutivamente de outras espécies, conhecido como Conceito Biológico de Espécie (Mayr, 1942). Outros conceitos são importantes para entender quais processos levam à especiação e que podem atender a diferentes objetivos. Wu (2001) coloca que os genes são a fonte de adaptação e assim constituem a causa de diferenciação, pois o genoma todo participa como uma unidade coesiva durante cruzamentos. Neste sentido, nem sempre as espécies estão isoladas reprodutivamente, pois a hibridização é um exemplo de que genes podem ser tocados entre táxons diferentes.

Essa teoria de que o gene é a unidade informativa que pode levar à diferenciação, permite que marcadores moleculares sejam interessantes para avaliar padrões de divergência entre e dentro de espécies. Grande parte dos marcadores moleculares disponíveis acessa a variabilidade genética neutra, pressupondo que os efeitos de deriva, mutação se sobressaiam para a sua organização dentro das espécies e populações (Minder & Wimer, 2008). Os marcadores nucleares, tais como os microssatélites, contam uma história recente sobre a evolução das espécies, enquanto que marcadores mitocondriais e cloroplastidiais remontam um cenário mais ancestral que leva aos padrões de diferenciação das espécies (Mitton, 1994).

Frente a essas considerações, a delimitação de espécies torna-se exequível a luz de muitas metodologias moleculares, tais como Filogenia, Filogeografia, Genética Quantitativa e Genética de Populações. Dessa maneira, diversas informações são agregadas para corroborar ou refutar a divergência genética entre táxons próximos. Muitos trabalhos foram conduzidos para avaliar diferenças potenciais entre táxons próximos geneticamente (Drummond & Halmiton, 2007; Cavallari et al., 2010; DeBoer et al., 2013; Rodrigues et al., 2015).

A Filogenia e filogeografia são bastante empregadas, pois conseguem acessar as diferenças nucleotídicas, evidenciando polimorfismos pontuais entre táxons. Análises filogeográficas tiveram sucesso em identificar centros de diversidade genética de uma fabácea, *Schizolobium parahyba*, auxiliando no estudo de especiação de táxons das florestas Neotropicais (Turchetto-Zolet et al., 2012). A Filogenia conseguiu verificar que a hibridização intergenérica foi um fator para o relacionamento filogenético entre diversas espécies da tribo Caesalpinioideae, um clado parafilético dentro da família Fabaceae (Redden et al., 2010).

Os microssatélites também foram úteis para avaliar a divergência genética entre variedades de *Casearia sylvestris*, indicando que processos de duplicação genômica e euploidia estão influenciando na divergência genética intervarietal (Cavallari et al., 2010). Os marcadores microssatélites são ferramentas moleculares eficientes para responder diversos objetivos que envolvam a diferenciação genética, inclusive o relacionamento genético entre coespecíficos.

A espécie em estudo *H. stigonocarpa* tem três variedades botânicas reconhecidas, como já anteriormente descritas, porém muitos trabalhos realizados com esta espécie ignoram este fato (Pestana et al., 2010). Então, a utilização de marcadores

moleculares para a discriminação genética entre suas variedades é um avanço, pois sua aplicação irá disponibilizar informações até então não acessadas para este nível. Como já mencionado, a delimitação de táxons é um procedimento amplo e que necessita de conhecimento de diversas áreas, porém as informações dentro deste contexto já são evidências que darão um rumo na investigação da divergência genética intervartietal de *H. stigonocarpa*.

2.6 GENÉTICA GEOGRÁFICA: ABORDAGENS ESPACIAIS NO ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA

2.6.1 Estudo da variabilidade genética no contexto geográfico

Diversas ferramentas moleculares, tais como os marcadores moleculares, estão disponíveis para acessar a variabilidade genética das espécies em níveis individual e populacional e têm auxiliado na quantificação de medidas genética, aumentando a compreensão de como os processos micoevolutivos influenciam na estruturação genética entre e dentre as populações (Freeland, 2005; Semagn et al., 2006). Dentre os marcadores moleculares, destacam-se as sequências curtas repetidas (SSR), conhecidas também como microssatélites por apresentarem muitas vantagens para a investigação de polimorfismos em genética de populações e em vários outros campos da genética (Brohede & Ellegren, 1999).

Estimativas da variabilidade genética, por meio dos marcadores microssatélites permitem inferir sobre a existência de estruturação genética populacional, fornecendo dados importantes para a dinâmica evolutiva (Sunnucks, 2000). A utilização de locos microssatélites possibilita estimar parâmetros estatísticos genéticos (Slatkin, 1995) que respondem questões acerca da diferenciação entre e dentre as populações, sugerindo hipóteses explicativas sobre a origem desta variação genética.

Medidas de diferenciação genética, obtidas pelo F_{ST} e outras estatísticas comparáveis (Neigel, 2002; Holsinger & Weir, 2009), relata implicitamente possibilidades de heterogeneidade espacial que possa ser responsável pela divergência genética (Diniz-Filho et al., 2014). Essas abordagens estatísticas são úteis para avaliar a estruturação genética populacional, além de indicar o quanto o fluxo gênico e a deriva genética

contribuem para essa estruturação, sugerindo evidências de como o espaço geográfico pode interferir na subdivisão populacional.

Várias metodologias, também investigam a divergência genética e buscam encontrar associações da variação genética com a distribuição geográfica das espécies de modo implícito (Diniz-Filho et al., 2008). Tais abordagens podem ser realizadas através de análises de agrupamento e técnicas de ordenação, que utilizam métricas de distâncias genéticas para verificar a dissimilaridades entre as populações (Cruz et al., 2011), que podem ser relacionadas com o espaço geográfico (François et al., 2010). Essas análises tornam-se interessantes do ponto de vista exploratório e descritivo dos dados, oferecendo abordagens estatísticas que visam inferir processos que explicam a diferenciação genética.

Visto que os processos microevolutivos ocorrem em uma escala espacial e temporal, estudos na área de Genética Geográfica levam a entender como o espaço geográfico influencia na distribuição da variabilidade genética e quais padrões espaciais estão associados com a dinâmica evolutiva das espécies (Epperson, 2003). No caso de plantas, restrições à dispersão de pólen e sementes são fatores que agem na diferenciação genética e podem ser afetados pelas características geográficas do espaço. Nesse sentido, muitos estudos tomando o espaço como fator explícito em suas análises foram feitos com o intuito de fornecer explicações sobre padrões espaciais da variabilidade genética das espécies. (Telles et al., 2001; Zucchi et al., 2004; Barbosa et al., 2015).

A inclusão do espaço no contexto genético é de grande valia, pois é uma característica que oferece sinais sobre os efeitos de processos microevolutivos que podem experimentar padrões diferenciados de acordo com a escala espacial (Epperson, 2003). No final da década de 1970 Sokal & Oden (1978a, 1978b) aplicaram o uso de autocorrelação para verificar como variáveis genéticas (por exemplo, frequências alélicas) comportam ao longo do espaço. Estes trabalhos trouxeram novas abordagens no campo de genética de populações, proporcionando novos conhecimentos nesta área. Vale ressaltar que esses avanços foram possíveis devido à disponibilidade de ferramentas moleculares, como citadas acima, que permitiram acessar informações dos ácidos nucleicos e com o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas estatísticas e poder computacional (Epperson, 2003; Diniz-Filho et al., 2008).

Análises que avaliam a estrutura genética espacial das populações trabalham com distâncias genéticas e geográficas e buscam avaliar como a variabilidade genética se organiza num contínuo geográfico (Diniz-Filho & Telles, 2002). Em teoria é esperado que

populações próximas geograficamente tendem a ser semelhantes geneticamente, pois há mais trocas de alelos entre populações próximas, facilitadas pela dispersão e fluxo gênico intenso. Muitas metodologias estatísticas são aplicáveis para estudar dados que utilizam métricas de distâncias para responder a proximidade genética entre as populações e possibilita relacionar os padrões encontrados com processos ecológicos (Guillot et al., 2009).

2.6.2 Estatísticas espacialmente implícitas e explícitas para análise da estrutura genética espacial

Em princípio, as estatísticas que foram desenhadas para análise espacial tinham como foco o nível populacional (Waples & Gaggiotti, 2006), porém em Genética Geográfica o interesse é focado na variação genética neutra obtida pela utilização dos marcadores moleculares. Assim, após a associação entre as áreas de ecologia e genética populacional foi possível trabalhar com a própria frequência alélica e aplicar as análises espaciais para investigar padrões geográficos na variação genética. Adicionalmente, neste contexto, características da paisagem foram incluídas nas análises, o que leva a uma compreensão mais refinada dos processos que interferem na dispersão e fluxo gênico das espécies (Guillot et al., 2009; Telles et al., 2014). Recentemente, há um aumento no número de trabalhos que emprega alguma técnica de análise espacial para responder e inferir sobre quais padrões geográficos possam influenciar na dinâmica evolutiva das espécies. Neste sentido, a Tabela 3 destaca as principais estatísticas espaciais empregadas para análises de dados genéticos.

Tabela 3 – Principais estatísticas espaciais empregadas para análise de dados genéticos.

Métodos estatísticos para análises genético espaciais implícitas		
Método	Objetivo	Referência
Técnicas de agrupamento		
Inferência Bayesiana	Atribuir indivíduos, considerando as frequências alélicas	Pritchard et al. (2000)
Técnicas de Ordenação		
Análises de Componentes Principais (PCA)	Sumarizar variáveis distribuídas no espaço (distância euclidiana), numa escala com poucas dimensões.	Hotteling (1933); Novembre & Stephens (2008)
Análises de Coordenadas Principais (PCoA)	Sumarizar variáveis distribuídas no espaço, numa escala com poucas dimensões, considerando vários tipos de distâncias.	Torgerson (1958); Anderson & Willis (2003)
Métodos estatísticos para análises genético espaciais explícitas		
Método	Objetivo	Referência
Correlações entre matrizes de distâncias		
Teste de Mantel Simples	Verificar se populações próximas geograficamente são semelhantes geneticamente.	Mantel (1967); Sokal (1979); Diniz-Filho et al. (2013)
Teste de Mantel Parcial	Avaliar se duas matrizes de distâncias são correlacionadas, descontando o efeito espacial.	Smouse et al. (1986); Telles & Diniz-Filho (2005)
Autocorrelação Espacial	Testar a existência de autocorrelação espacial nas frequências alélicas entre pares de populações.	Sokal & Oden (1978a,b); Sokal & Oden (1991)
Correlogramas	Analisar distâncias genéticas e geográficas ao longo do espaço, em classes de distâncias geográficas.	Oden & Sokal (1986); Diniz-Filho & Bini (2012)
Descontinuidades genéticas		

<i>continuação</i>		
Métodos estatísticos para análises genético espaciais explícitas		
Método	Objetivo	Referência
Abordagem Womble	Localizar barreiras por meio de interpolação das frequências alélicas, evidenciando mudanças abruptas nesta variável.	Womble (1951); Manel et al. (2003)
Algoritmo de Monmonier	Visualizar discontinuidades espaciais na matriz de diferenciação genética.	Monmonier (1973); Manel et al. (2003)
Regressão Espacial		
Modelos de Regressão espacial	Construir modelos para corrigir o erro do Tipo I sobre inferências obtidas por autocorrelação espacial	Diniz-Filho et al. (2009)

Fonte: Diniz-Filho et al. (2009); Guillot et al. (2009)

A avaliação da magnitude da diferenciação genética é um conhecimento prévio acerca da heterogeneidade espacial que, possivelmente, tem influência na organização das frequências alélicas, levando a uma distribuição não aleatória. Entretanto, heterogeneidade espacial não significa, necessariamente, a existência de padrão espacial (Sokal & Oden, 1978b). Por isso, as estatísticas espaciais são ferramentas ideais para a refinação dos dados e investigar como o espaço molda a distribuição da variabilidade genética nas espécies ao longo de sua área de ocorrência.

Após a avaliação da diferenciação genética é comum que técnicas de agrupamento sejam adotadas para visualizar padrões de divergência genética. Mesmo que esta abordagem não inclua o espaço em seu escopo, ela reflete implicitamente como características espaciais podem participar na formação dos grupos (Guillot et al., 2009). Existe uma série de análises de agrupamento, e a inferência Bayesiana é bastante robusta, pois assume *a priori* modelos de equilíbrio de Hardy-Weinberg, correlações das frequências alélicas e coancestria entre as populações (Pritchard et al., 2000). Essa análise sugere que barreiras ao fluxo gênico são a causa dos grupos gerados e assim o padrão encontrado provavelmente seja resultado da estrutura espacial genética, que deve ser averiguada explicitamente.

Muitas estatísticas são oriundas de outras áreas, tais como Ecologia e Geografia e foram aprimoradas para a aplicação no campo da Genética de Populações. Dentre essas, destacam as Técnicas de ordenação, um tipo de análise multivariada, que funcionam como análises espacialmente implícitas e são rotineiramente utilizadas para sumarizar muitas variáveis em eixos principais que explicam a maior parte da variação, indicando padrões e direções existentes nessa variação (Prado et al., 2002). O princípio básico destas metodologias são reduzir o máximo de informações no espaço. As Análises de Componentes Principais (PCA), que preservam apenas distâncias euclidianas e as Análises de Coordenadas Principais (PCoA) aplicadas a qualquer matriz de distância são técnicas de ordenação amplamente usadas para avaliar superfícies de variação (Borcard et al., 2011). Muitos trabalhos lançam mão desta metodologia para avaliar como uma série de variáveis biológicas, físicas, químicas e sociais são distribuídas no espaço (François et al., 2010). Cavalli-Sforza et al. (1994) construíram mapas geográficos (“mapas sintéticos”) para demonstrar como a variação genética é distribuída no espaço, que podem denotar os resultados obtidos pela análise PCA e PCoA (Novembre & Stephens, 2008). Assim, estas análises funcionam de forma exploratória para representar graficamente como espaço pode ser um fator na configuração da variação genética.

O teste de Mantel, outra estatística espacial explícita, comumente empregada e que necessita de matrizes de distâncias genética e geográfica para averiguar padrões geográficos que estejam atuando na diferenciação genética. Frequentemente é usado para avaliar se as populações se comportam no modelo de isolamento-por-distância (Diniz-Filho et al., 2013), ou seja, como a variabilidade genética se organiza com o aumento da distância geográfica. Assim, é uma estatística que verifica a existência de correlações matriciais, realizada por um processo de randomização que procura por associações entre os elementos das matrizes de distâncias genética (F_{ST} , Nei (1972), por exemplo) e geográfica (Manly, 1986). O teste de Mantel assemelha-se à correlação de Pearson, entretanto a significância do valor observado do Z de Mantel é calculada por permutações em uma das matrizes de distância, gerando uma distribuição nula (Diniz-Filho et al., 2013). O teste de Mantel é um procedimento muito empregado na área de Genética Geográfica, porém existem trabalhos que questionam sua robustez para avaliar determinados padrões geográficos (Legendre & Fortin, 2010). Entretanto, ele é uma das primeiras análises requisitadas para observar se espaço é fator considerável para configurar a variação

genética e assim permitir a adesão a outras estatísticas que possam inferir de fato sobre sua influência.

Outra propriedade do teste de Mantel pode ser estendida para comparar duas matrizes de distâncias, controlando o efeito de outra, comumente sendo a matriz espacial (Smouse et al., 1986). Este tipo de correlação matricial é denominado de teste de Mantel Parcial, semelhante à regressão múltipla e tem por objetivo investigar se outros atributos, tais como características ambientais, juntamente com componentes geográficos explicam os padrões encontrados na variação genética (Lichstein, 2007). Esta abordagem é útil quando verificado anteriormente a influência de fatores bióticos e abióticos na diferenciação genética. Isto é importante, pois é comum que variáveis ambientais sejam afetadas pelo espaço e consequentemente estas variáveis possam ser úteis para sugerir que a seleção natural esteja atuando para a formação de padrões. Entretanto, esse resultado normalmente não se aplica a marcadores microsatélites, pois são regiões do genoma que acessam a variabilidade genética neutra e assim não têm influência direta da seleção natural (Diniz-Filho et al., 2013).

No final da década de 1980 os trabalhos de Sokal & Oden (1978a,b) tornaram-se um avanço para análises em escalas espaciais, pois permitiram colocar o espaço explicitamente nas análises. A partir destes trabalhos uma série de outros foi desencadeada e com a evolução de tecnologias ao longo do tempo, as análises foram aprimoradas e possibilitaram uma melhor compreensão dos dados (Diniz-Filho et al., 2008). O método de autocorrelação espacial com dados genéticos busca avaliar se uma frequência alélica é dependente em localidades vizinhas, esperando encontrar que populações mais próximas geograficamente provavelmente serão mais semelhantes. Normalmente, a estatística *I* de Moran é empregada para investigar a existência de autocorrelação espacial e apresenta valores variando entre -1,0 e +1,0, indicando autocorrelação espacial negativa ou positiva, respectivamente (Sokal & Oden, 1978a). Outras medidas, tais como o coeficiente *c* de Geary, também são aplicáveis na quantificação de autocorrelação espacial (Bertorelle & Barbujani, 1995).

Os dados de autocorrelação espacial geram uma superfície de variação que pode ser analisada pela construção de correlogramas que decompõem em classes a matriz de distâncias geográfica, onde as populações são conectadas em pares dentro de cada classe. Os correlogramas, assim, conseguem detalhar de forma mais clara como a escala geográfica interfere na variação genética das populações, evidenciando padrões que

possam ser mantidos por diferentes processos evolutivos (Oden & Sokal, 1986; Diniz-Filho & Bini 2012).

A ocorrência de autocorrelação espacial deixa evidenciado que o componente espacial tem algum papel na organização da variabilidade genética ao longo de sua distribuição. Na verdade ela indica que locais próximos são mais semelhantes entre si geneticamente ou o contrário, porém a presença de autocorrelação nos dados afeta a estimação dos graus de liberdade, o que infla o erro do Tipo I (Diniz-Filho et al., 2009). Outras metodologias estatísticas foram desenvolvidas e aperfeiçoadas para minimizar esse problema e assim permitir inferências mais acuradas sobre quais processos são responsáveis pela autocorrelação espacial. Portanto, existe uma série de análises voltadas para este contexto, oriundas de diversas áreas da Ciência, e que foram designadas como regressão espacial. Dentre estas, destacam as técnicas de PCNM (*principal coordinate of neighbor matrices*) e as “Análises de Superfície de Tendência”, que de forma geral incorporam o espaço em seus modelos para refinar as inferências feitas sobre a variação genética existente (Diniz-Filho et al., 2009).

A Genética Geográfica baseia-se nos princípios das grandes áreas primárias da Ecologia, Genética e Biogeografia e isso possibilita que interesses científicos sejam compartilhados entre as mesmas, dando robustez aos dados obtidos (Diniz-Filho et al., 2008). E isso leva a utilização de outras áreas mais específicas, como por exemplo, Genética na Escala de Paisagem, fornecendo informações putativas para a compreensão dos processos inerentes aos padrões geográficos encontrados (Telles et al., 2014). Neste contexto, as abordagens de descontinuidades espaciais são relevantes, pois foram criadas para identificar barreiras geográficas que atuam como fatores que maximizam a diferenciação genética entre as populações. Os algoritmos de Monmonier e o *Wombling* são procedimentos que tem esta finalidade e são baseados em distâncias genéticas, coordenadas geográficas e interpolação das frequências alélicas para visualizar barreiras geográficas que maximizam a divergência genética (Manel et al., 2003).

As análises aqui descritas brevemente mostram que há uma consolidação nas estatísticas espaciais empregadas para busca da variação genética e isto é um quadro positivo, pois facilita a execução de trabalhos que tenham em seu escopo perguntas e hipóteses neste âmbito. Nesta perspectiva, torna-se útil empregar estas análises para investigar se a heterogeneidade espacial, por vezes observada em populações naturais

refletem padrões espaciais da variabilidade genética (Sokal & Oden, 1978b; Diniz-Filho & Bini, 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de coletas e amostragem de material biológico

As áreas de coletas foram delimitadas de acordo com a distribuição geográfica e ocorrência populacional da espécie *H. stigonocarpa*, localizadas nas regiões do Brasil Central em fitofisionomias do bioma Cerrado que podem ser observadas na Figura 9. Em cada área de coleta foram amostradas folhas de pelo menos 32 indivíduos adultos em 32 localidades, totalizando 1034 indivíduos. Na Tabela 4 estão descritos os locais de coletas e suas coordenadas geográficas.

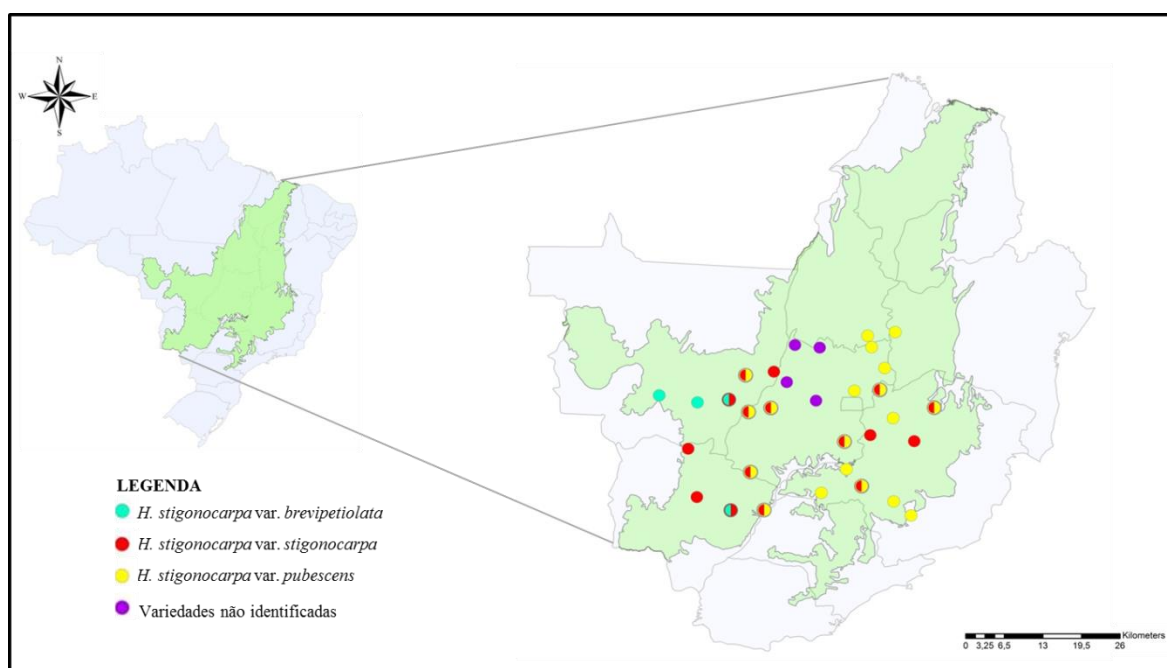


Figura 9 – Áreas de amostragem de populações de *H. stigonocarpa* em regiões do Cerrado brasileiro. Os locais com duas cores diferentes indicam ocorrência em simpatria das variedades botânicas da espécie.

Devido o reconhecimento de variedades botânicas para *H. stigonocarpa*, em cada área de coleta foi feita a identificação até o nível infraespecífico em que os indivíduos pertencem. Essa identificação taxonômica baseou-se nas diferenças morfológicas foliares exibidas entre essas variedades (Pestana, 2010; Rando et. al, 2013). Em algumas áreas amostrais houve simpatria entre as variedades da espécie em estudo, visualizada na Figura 9, onde os pontos de coleta com duas cores apresentaram ocorrência de mais de uma variedade botânica de *H. stigonocarpa*.

O armazenamento do material biológico foi realizado em campo, logo após a coleta, acondicionado em saco plástico com sílica em gel para reter a umidade, manter a qualidade do DNA a ser extraído. Em laboratório, esse material biológico foi depositado em tubos falcon de 15 mL e posteriormente em freezer -80 °C para conservação das folhas no Laboratório de Genética & Biodiversidade (LGBio/UFG) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás.

3.2 Extração de DNA e amplificação das regiões microssatélites

A coleta dos dados moleculares ocorreu no Laboratório de Genética & Biodiversidade (LGBio). A extração de DNA genômico dos 1034 indivíduos obedeceu ao protocolo de Doyle & Doyle (1987), descrito e modificado por Ferreira & Grattapaglia (1998). Este protocolo utiliza-se do tampão de extração CTAB 2% para lise celular e junto com NaCl agem para precipitar o DNA e separá-lo de outros componentes, tais como proteínas e polissacarídeos. Para este procedimento retirou-se uma amostra de tecido foliar em torno de 50 mg a 200 mg para maceração, com uso de *beads* magnéticas e macerador automático, realizando as etapas seguintes do protocolo.

Após essa etapa, o DNA total extraído foi quantificado em eletroforese horizontal, com o uso do tampão de corrida TBE 1X (Tris-Borato 90 mM e EDTA 2 mM), em gel de agarose 1% e comparação dos marcadores *Lambdas* (Invitrogen®), com massa molecular de 50 ng, 100 ng e 200 ng. A visualização do DNA obtido se deu pela utilização de brometo de etídeo, pois quando colocado sob luz UV, no aparelho transluminador, emite fluorescência, possibilitando estimar a quantidade de DNA. Em seguida o DNA foi diluído a uma concentração final de 2,5 ng/μL e armazenado em freezer a -20 °C.

A etapa de amplificação dos locos microssatélites, relacionados na Tabela 5, foi realizada por meio de reações de PCR (reação da cadeia da polimerase). Os *primers* microssatélites utilizados para as análises genéticas de *H. stigonocarpa* são provenientes de transferibilidade, desenhados especificamente para *H. courbaril* (Ciampi et al., 2008; Braga et al., 2014), uma vez que ainda não existem microssatélites específicos para esta espécie. No trabalho de Ciampi et al. (2008) já foi testada a transferibilidade dos *primers* de *H. courbaril* para *H. stigonocarpa*, porém os *primers* desenvolvidos por Buonamici et al. (2008) foram testados e otimizados no laboratório LGBio para execução deste trabalho e também para fornecer mais locos microssatélites para análise da variabilidade genética de

H. stigonocarpa (Braga et al., 2014). Para os testes de amplificação cruzada foram avaliados oito locos microssatélites, inicialmente desenvolvidos para a espécie *H. coubaril* (Hym 01, Hym 02, Hym 03, Hym 04, Hym 05, Hym 06, Hym 09 e Hym 11). Primeiramente foram feitos testes com quatro indivíduos para otimização da temperatura de anelamento dos *primers* testados. Posteriormente, 16 indivíduos distribuídos em cinco subpopulações de Goiás e Mato Grosso foram utilizados para verificar o polimorfismo dos locos transferidos com sucesso.

Tabela 4 – Locais de coleta de *H. stigonocarpa* e suas coordenadas geográficas, em regiões do Cerrado Brasileiro. Em cada área de coleta houve a identificação em nível de variedade botânica. (N) Número total de indivíduos em cada população.

População	Localidade	Código da localidade	<i>H. stigonocarpa</i>			N	Longitude**	Latitude**
			<i>var. stigonocarpa</i>	<i>var. pubescens</i>	<i>var. brevipetiolata</i>			
1	Cuiabá-MT	HYSCUIMT	0	0	32	32	-55,985133	-15,387167
2	General Carneiro-MT	HYSGCAMT	17	0	15	32	-53,000067	-15,570083
3	Jussara-GO	HYSJUSGO	27	5	0	32	-51,211150	-15,936317
4	Jaraguá-GO	HYSJARGO	*	*	*	34	-49,280967	-15,620283
5	Porangatu-GO	HYSPOGO	*	*	*	32	-49,127617	-13,281600
6	São Miguel do Araguaia-GO	HYSSMAGO	*	*	*	32	-50,179900	-13,165217
7	Mozarlândia-GO	HYSMOZGO	*	*	*	32	-50,533750	-14,802833
8	Bom Jardim-GO	HYSBJAGO	23	9	0	32	-52,168033	-16,115950
9	Água Boa-MT	HYSAGBMT	28	4	0	32	-52,286867	-14,495200
10	Primavera do Leste-MT	HYSPLMT	0	0	32	32	-54,349067	-15,698517
11	Sonora-MS	HYSSONMS	32	0	0	32	-54,745383	-17,742767
12	Bandeirantes-MS	HYSBANMS	32	0	0	32	-54,371367	-19,878283
13	Água Clara-MS	HYSAGCMS	22	0	10	32	-52,920217	-20,457100
14	Selvíria-MS	HYSSELMS	19	13	0	32	-51,501417	-20,452500
15	Aporé-GO	HYSAPOGO	12	20	0	32	-52,084750	-18,773267
16	Pires do Rio-GO	HYSPIRGO	10	22	0	32	-48,070983	-17,425000
17	Paracatu-MG	HYSPTUMG	32	0	0	32	-46,963083	-17,143283
18	Pirapora-MG	HYSPIPMG	32	0	0	32	-45,085833	-17,409050
19	Riachinho-MG	HYSRIAMG	0	32	0	32	-45,986600	-16,394633
20	Roda Velha-BA (São Desiderio)	HYSRVEBA	0	32	0	32	-45,897483	-12,596000
21	Monte Alegre-GO	HYSMOAGO	0	32	0	32	-46,908817	-13,260433
22	Planaltina de Goiás-GO	HYSPLGGO	0	32	0	32	-47,642350	-15,189433
23	Araguari-MG	HYSARAMG	0	32	0	32	-47,986783	-18,648083
24	Bambuí-MG	HYSBAMMG	0	32	0	32	-45,961417	-20,075600

continuação

População	Localidade	Código da localidade	<i>H. stigonocarpa</i>			N	Longitude**	Latitude**
			var. <i>stigonocarpa</i>	var. <i>pubescens</i>	var. <i>brevipetiolata</i>			
25	Perdizes-MG	HYSPERMG	8	32	0	40	-47,336200	-19,390683
26	Candeias-MG	HYSCANMG	0	32	0	32	-45,216370	-20,689170
27	Comendador Gomes-MG	HYSCOGMG	0	32	0	32	-49,052700	-19,691300
28	Japonvar-MG	HYSJAPMG	17	15	0	32	-44,232400	-15,933490
29	Posse-GO	HYSPOSGO	0	32	0	32	-46,347140	-14,182240
30	Arraias-TO	HYSARRTO	0	32	0	32	-47,072490	-12,757950
31	Cocalinho-MT	HYSCOCMT	32	0	0	32	-51,083460	-14,34140
32	Formoso-MG	HYSFORMG	11	21	0	32	-46,559780	-15,139740
Total	—	—	—	—	—	1034	—	—

* Variedades botânicas não identificadas

** Coordenadas geográficas em grau decimal

Tabela 5 – Relação dos *primers* microssatélites utilizados para análise de polimorfismo genético em *H. stigonocarpa*. Esses locos são provenientes de testes de transferibilidade de *H. courbaril* para *H. stigonocarpa*, pois ainda não existem microssatélites espécie-específicos para *H. stigonocarpa*.

Primer	Motivo de repetição	Sequência	Dye Fluorescente	TA	Bibliografia
Hc14 - F	(TC) ₁₇	CATTCTGCCATCGGTAGGTT	6FAM	58 °C	Ciampi et al. (2008)
Hc14 - R		TCACCCAAACAGGAGTGAA			Ciampi et al. (2008)
Hc17- F	(TC) ₁₃	TGATTTTCATTCCCCTCTTGC	HEX	58 °C	Ciampi et al. (2008)
Hc17- R		GGTCAAAGAAAATGCTGGCT			Ciampi et al. (2008)
Hc33 - F	(AG) ₁₆	GAACAAATCAACTTTCTTTGAAGC	NED	58 °C	Ciampi et al. (2008)
Hc33 - R		TTGACGCTTATTTTGCACCA			Ciampi et al. (2008)
Hc40 - F	(AG) ₂₆	CCTCTCTCCCAAATTCACGA	HEX	60 °C	Ciampi et al. (2008)
Hc40 - R		TGCAATAGAATTTCCGAGGC			Ciampi et al. (2008)
Hc42 - F	(CA) ₅ T(AG) ₁₉	TGGCTAAAAGTTGGGAGGGT	6FAM	56 °C	Ciampi et al. (2008)
Hc42 - F		TTCCCCCTTTTCATGTTGTC			Ciampi et al. (2008)
Hym01 - F	(CT) ₁₃	CCCTTCATCACATTCTCAAT	HEX	54 °C	Buonamici et al. (2008)
Hym01 - R		CAAAGCCATCTTTGTGTTTT			Buonamici et al. (2008)
Hym02 - F	(CA) ₁₇	AGGATTCAATACCTTCACACA	NED	58°C	Buonamici et al. (2008)
Hym02 - R		GCGAGTCATGATGAATATCAA			Buonamici et al. (2008)
Hym05 - F	(TG) ₁₂	TAGATGACCCTTTTGTGCTT	NED	56°C	Buonamici et al. (2008)
Hym05 - R		GGCAACTCCTTTCTATTTT			Buonamici et al. (2008)
Hym06 - F	(CA) ₁₅	TTAATCCCAATGTCTTCTGC	6FAM	58°C	Buonamici et al. (2008)
Hym06 - R		CCACATTCCTGTGATACCTT			Buonamici et al. (2008)

A amplificação via PCR dos microssatélites foi realizada em reação com volume final de 10 μL : 2,0 μL de DNA a 2,5 $\text{ng}/\mu\text{L}$; 1,0 μL de cada par de *primer forward* e *reverse* 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 H_2O miliQ. As condições de termociclagem das reações de PCR seguidas foram: desnaturação de pré-ciclo a 94 °C a 5 min; 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a X °C (essa temperatura de anelamento varia de acordo com o *primer*) por 1 min, extensão a 72 °C por 1 min e extensão final a 72 °C por 45 min (Figura 10).

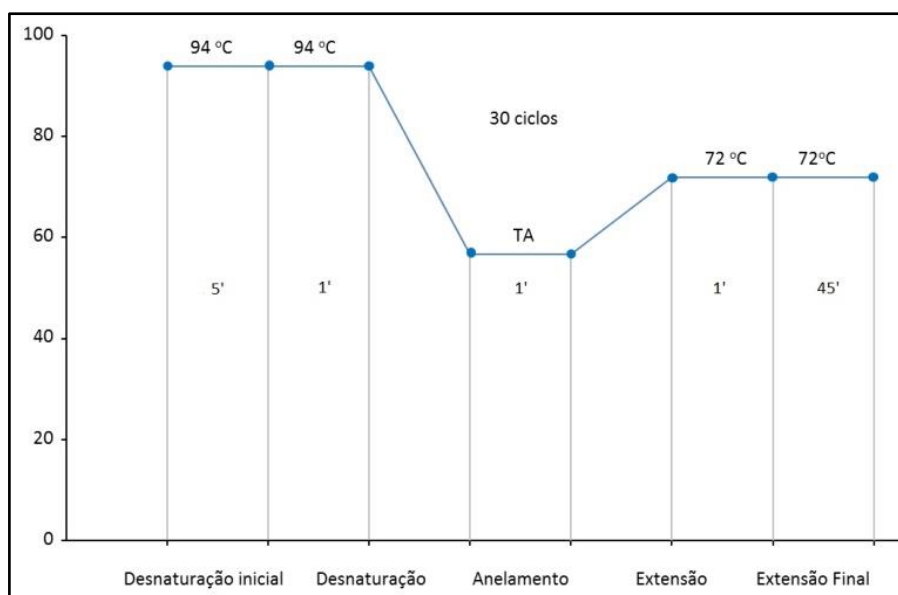


Figura 10 – Condições de termociclagem para amplificação via PCR dos locos microssatélites. (TA – Temperatura de Anelamento).

Cada loco microssatélite foi amplificado em PCR *singleplex* e a verificação da amplificação foi realizada em eletroforese horizontal com TBE 1X e agarose a 3%, submetida a 110 V. Em seguida os locos já amplificados foram multiplexados (misturados) para as próximas análises laboratoriais. Os *primers forwards* são marcados com os fluoróforos (Life Technologies®) 6'-FAM (6-carboxifluoresceína), HEX (hexacloro-6-carboxifluoresceína) e NED (2'-cloro-5'-fluoro-7',8' fenil-1.4-dicloro-6-carboxifluoresceína). As informações sobre a fluorescência e amplitude alélica dos *primers* são importantes para a montagem dos grupos de multiplex. Portanto, locos de tamanhos iguais com fluorescência diferentes ou locos de tamanhos diferentes com mesma fluorescência foram considerações necessárias para a montagem de cada multiplex.

Para a multiplexagem dos *primers* foram utilizados 2 μ L da reação de PCR de cada *primer*, plotados em outra placa, denominada de placa-mãe. Desta placa foi retirada uma alíquota de 1 μ L, plotada numa segunda placa (placa-filha), onde em cada amostra foram adicionados 9 μ L da mistura de formamida *Hi-Di* e *size standard* (Life Technologies®), nas seguintes quantidades, 8,75 μ L e 0,25 μ L, respectivamente, totalizando 10 μ L de volume total. A metodologia de eletroforese capilar automatizada em sequenciador ABI 3500 (Applied Biosystems®) foi empregada para a detecção dos fragmentos amplificados, como observado na Figura 11.

O *size standard* é um marcador que apresenta um padrão de fragmentos conhecido para determinar o tamanho de cada alelo e sua escolha é dependente da matriz de leitura dos fragmentos amplificados (Guichoux et al., 2011). Para este trabalho foi empregada a matriz DS-30 (*Dye Set*), que utiliza o *size standard* ROX-500 (6-carboxi-X-rodamina - Life Technologies®). A análise dos fragmentos gerados a partir da genotipagem em eletroforese capilar automatizada foi realizada no programa GeneMapper v. 5.0 (Applied Biosystems®).

Após todas as análises, foi aplicada a metodologia de confirmação dos alelos, para garantir maior confiabilidade na genotipagem. Este procedimento foi conduzido pela escolha de alelos existentes para cada loco, em que foi realizada uma nova eletroforese capilar automatizada a partir das reações de PCR presentes na placa-mãe. Para avaliar possíveis erros de genotipagem em cada loco, relacionados com problemas de alelos nulos *stutter* e *dropout*, foi usado o programa Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004).

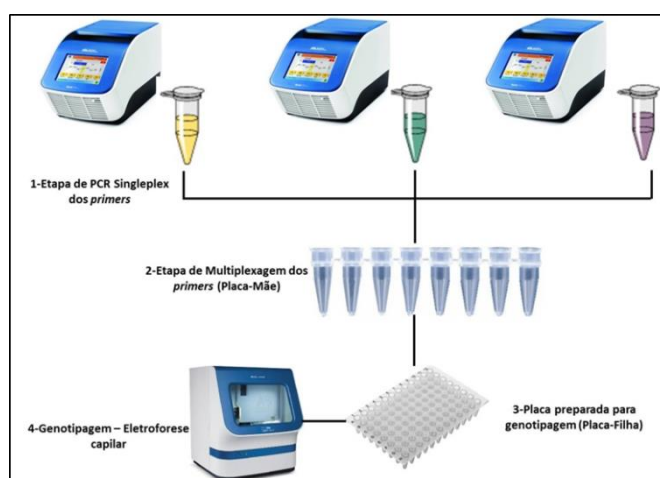


Figura 11 – Etapas de amplificação e preparo dos microssatélites para análise dos fragmentos gerados, considerando a fluorescência e a amplitude alélica de cada loco, por meio de eletroforese capilar automatizada.

3.3 Análises Genético-Estatísticas

3.3.1 Caracterização da variabilidade genética dos locos microssatélites

Para a caracterização dos nove locos microssatélites foram analisados todos os indivíduos de *H. stigonocarpa*, em que foram realizadas as estimativas dos seguintes parâmetros genéticos: número de alelos por loco (A), frequência alélica para cada loco, heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O), índices de fixação f e F_{ST} . Essas estimativas foram obtidas por meio do programa FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 1995).

A partir da matriz de genótipos foram feitas análises para avaliar se o conjunto de locos microssatélites é útil para a discriminação genética dos indivíduos de *H. stigonocarpa*. Para isto foram estimados os parâmetros de probabilidade de identidade genética (I), que avalia se dois genótipos escolhidos aleatoriamente são iguais por descendência e probabilidade de exclusão de paternidade (Q), em que é definida como a capacidade de discriminação de um loco em excluir uma falsa paternidade (Paetkau et al., 1995; Weir, 1996).

3.3.2 Diversidade e divergência genética entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa*

Um dos pontos importantes abordados neste trabalho é a análise de divergência genética entre as variedades botânicas de jatobá-do-cerrado. Abordagens nesse sentido são escassas e ainda são inexistentes trabalhos que avaliam a divergência genética infraespecífico em jatobá-do-cerrado. Portanto, certos critérios foram tomados em função da organização dos dados, relacionados à execução das análises pertinentes ao objetivo de investigar como a variabilidade genética está estruturada entre as variedades de *H. stigonocarpa*. Assim sendo, das 32 localidades amostradas, quatro não foram incluídas, localizadas nas regiões de Jaraguá-GO, Porangatu-GO, São Miguel do Araguaia-GO, Mozarlândia-GO, pois não foram identificadas em qual variedade botânica são pertencentes, por o que pode ser observado na Tabela 4. Essas subpopulações não foram identificadas em qual variedade são pertencentes, pois no momento da coleta essa informação não foi registrada. Outro aspecto levado em conta foi a ocorrência de simpatria

entre as variedades. Neste caso, os locais que apresentaram essa situação tiveram os indivíduos alocados como subpopulações separadamente. Deste modo, foram analisadas 39 subpopulações, sendo que destas, 19 são pertencentes à variedade *pubescens* (461 indivíduos), 16 da variedade *stigonocarpa* (354 indivíduos) e quatro da *brevipetiolata* (89 indivíduos), totalizando 904 indivíduos da espécie. Dessa maneira, os dados foram montados de forma que o nível de maior interesse fossem as variedades botânicas, possibilitando delimitar análises relativas à divergência neste nível.

Primeiramente, as subpopulações de cada variedade botânica teve a diversidade genética caracterizada a partir das estatísticas genéticas descritivas e foram feitas análises para verificar a existência de alelos privados, utilizando o programa GDA 1.1 (Lewis & Zaykin, 2002). O teste de comparação entre grupos de amostras foi aplicado para avaliar se as diferenças entre as variedades botânicas para riqueza alélica, heterozigosidade esperada e observada e o coeficiente de endogamia eram significativas, em que esta significância foi avaliada por meio de permutação. Esta metodologia foi realizada no programa FSTAT 2.9.3.2. A correlação de Pearson foi empregada para avaliar se a altitude influencia na distribuição da heterozigosidade esperada e riqueza alélica destas variedades botânicas, calculada na plataforma R (Core Team, 2015).

Para responder a hipótese que busca avaliar a divergência genética entre as variedades botânicas de jatobá-do-cerrado, foi conduzida uma análise de variância molecular (AMOVA), a partir da matriz de genótipos (Excoffier et al., 1992). O uso da AMOVA possibilita quantificar como a estrutura genética está organizada em vários níveis de subdivisão, além de mensurar entre e dentro das populações (Meirmans, 2012). Inicialmente, esta análise foi desenhada para dados haplotípicos, mas com adequações estatísticas ela pode ser utilizada para dados de microssatélites, considerando a média das diferenças das unidades de repetição em cada loco (Slatkin, 1995; Michalakis & Excoffier, 1996). Desta maneira, a variação genética investigada foi particionada nos seguintes níveis hierárquicos (Tabela 6): entre as variedades botânicas (F_{CT}); entre as subpopulações dentro das variedades (F_{SC}); entre indivíduos dentro das subpopulações (F_{IS}) e entre genes dentro de indivíduos de todas as subpopulações (F_{IT}). Esta análise foi realizada no programa ARLEQUIN 3.11 (Excoffier et al., 2005).

Tabela 6 – Descrição matemática dos níveis de variação (AV) entre subpopulações dentro de variedades (AS/WV) entre indivíduos dentro de subpopulações (AI/WS) e dentro de indivíduos (WI) segundo a AMOVA.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados (SQ)	Esperança do Quadrado Médio (EQM)
Entre Variedades (AV)	V-1	SSD (AV)	$n''\sigma_a^2 + n'\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Entre subpopulações dentro de variedades (AS/WV)	S-V	SSD (AS/WV)	$n\sigma_b^2 + 2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Entre indivíduos dentro de subpopulações (AI/WS)	N-S	SSD (AI/WS)	$2\sigma_c^2 + \sigma_d^2$
Dentro de indivíduos (WI)	N	SSD (WI)	σ_d^2
Total	2N -1	SSD(T)	σ_T^2

Ainda buscando evidências sobre a diferenciação genética entre as variedades de *H. stigonocarpa*, foram utilizadas técnicas de agrupamento. Assim, a distância genética de Nei (1972) entre cada subpopulação foi calculada e analisada pela técnica de agrupamento UPGMA (*unweighted pair-group method using arithmetic averages*). O UPGMA é um método aglomerativo e hierárquico, que obtém os resultados a partir da média aritmética não-ponderada da dissimilaridade entre as subpopulações (Cruz et al., 2011). A partir deste método foi construído um dendrograma para a representação gráfica da matriz de distância genética, avaliado pelo coeficiente de correlação cofenética, que é uma medida que demonstra o grau de fidelidade do dendrograma em representar a matriz de distância genética original (Saraçlı et al., 2013). A distância genética de Nei (1972) foi calculada pelo programa BOOD 3.1 (Coelho, 2000), adotando 10.000 reamostragens por *bootstrap* para determinar a consistência dos agrupamentos formados. A construção do dendrograma foi realizada na plataforma R (Core Team, 2015).

A análise de agrupamento Bayesiano foi adotada para sustentar evidências sobre a divergência genética entre as variedades de *H. stigonocarpa*. Assim, a metodologia implementada no programa STRUCTURE 2.3.4, construído sob as bases da teoria Bayesiana, foi utilizada para inferir sobre a formação de agrupamentos, segundo a estrutura genética das subpopulações, a partir das frequências alélicas e genotípicas. Esse procedimento estatístico assume como pressupostos que as subpopulações estão sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação nos locos (Pritchard et al., 2000). Este modelo admite um valor de K como número possível de subpopulações as quais os indivíduos são atribuídos. Com essas informações, o modelo faz as análises de

atribuição de indivíduos para uma ou mais subpopulações prováveis, utilizando valores de probabilidade.

A finalidade maior desta análise foi verificar se os indivíduos seriam alocados de acordo com a variedade botânica ao qual eles pertenciam. Logo, as condições de corrida foram propostas levando em consideração este aspecto. Assim, foram realizadas 30 replicações para cada K (1 a 6), sob o modelo de coancestria (*admixture model*) e correlação das frequências alélicas entre as subpopulações. Para as corridas foram determinados 30.000 ciclos de *burnin* e 1.000.000 de iterações na cadeia MCMC. A escolha do melhor K foi feita utilizando o programa STRUCTURE HARVESTER 0.6.94 (Evanno et al., 2005), gerando um gráfico, a partir das análises feitas no STRUCTURE. Os arquivos *clumpp indifile* e *popfile* do melhor K foram analisados no programa CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007) e posteriormente verificados no programa DISTRUCT 1.1 (Rosenberg, 2004) para a adequação do gráfico populacional, gerado no programa STRUCTURE.

Após a primeira AMOVA realizada com o objetivo de verificar a divergência genética entre as variedades, diversas outras AMOVA's foram conduzidas, considerando o agrupamento formado no STRUCTURE e também com a combinação das variedades botânicas em dois grupos, contrastando sempre um com o outro. Assim foram feitas as seguintes combinações: variedade *brevipetiolata* versus variedades *stigonocarpa* e *pubescens*; variedade *stigonocarpa* versus variedades *pubescens* e *brevipetiolata*; variedade *pubescens* versus variedades *stigonocarpa* e *brevipetiolata*. Dessa maneira, foi possível verificar o quanto e qual variedade botânica contribui para uma maior diferenciação genética.

3.3.3 Estrutura genética e descrição da magnitude da distribuição da variabilidade genética

Nesta análise foram utilizadas as 32 subpopulações com os 1034 indivíduos, não levando em conta a classificação em variedades. Dessa maneira, as subpopulações foram caracterizadas geneticamente a partir das estatísticas genético-populacionais descritivas. Para verificar a existência de desvios das proporções genotípicas esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg em cada loco em cada subpopulação, foi empregado o

teste Exato de Fischer, realizado no programa GDA 1.1. Este mesmo teste foi utilizado para avaliar se todos os pares de locos estavam em equilíbrio de ligação.

A estruturação genética populacional nas subpopulações de *H. stigonocarpa* foi quantificada por meio das estatísticas F de Wright (1951), analisando os valores de F_{IS} (f), relativo à endogamia intrapopulacional, F_{ST} (θ) que corresponde à subdivisão entre subpopulações devido à endogamia e F_{IT} (F) que quantifica a endogamia total, obtidas por análise de variância de frequências alélicas descritas em Weir & Cockerham (1984). As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas para estimar esta estruturação genética utilizando o programa FSTAT 2.9.3.2.

A estatística R_{ST} foi calculada para comparação com o valor de F_{ST} , pois mesmo que esta medida seja análoga ao F_{ST} , o R_{ST} foi desenvolvido para estimar a subdivisão populacional a partir das frequências alélicas obtidas de marcadores microssatélites (Slatkin, 1995). Ambas estatísticas acessam a diferenciação genética entre as subpopulações, porém o R_{ST} é construído sob o modelo de mutação *stepwise*, condizente com os mecanismos de evolução dos microssatélites. O R_{ST} foi calculado pelo programa SPAGeDi 1.4 (Hardy & Vekemans, 2002) com 10.000 permutações com um intervalo de confiança de 99%, bem como a verificação de diferenças entre ele e o F_{ST} .

3.3.4 Estrutura espacial nas subpopulações de *H. stigonocarpa*

Para as análises referentes às perguntas de distribuição espacial da variabilidade genética, os indivíduos da variedade *brevipetiolata* foram desconsiderados, pois esta variedade botânica se mostrou a mais diferente geneticamente em relação às outras duas, como discutido na seção de resultados. Então para evitar efeitos opostos nas análises de correlação matricial optou-se pela retirada desta variedade botânica. Assim, as estatísticas espaciais trabalharam em nível de espécie, não incluindo os táxons infraespecíficos. Dessa maneira, foram analisadas 30 subpopulações, num total de 942 indivíduos, caracterizando um trabalho de Genética Geográfica em ampla escala.

Todas as análises descritas abaixo foram realizadas na plataforma R (Core Team, 2015), utilizando os seguintes pacotes estatísticos: *hierfstat* (Goudet, 2005), *vegan* (Oksanen et al., 2015), *adeget* (Jombart et al., 2015), *spdep* (Bivand et al., 2015), *ade4* (Dray, 2015), *ape* (Paradis et al., 2015), *FactoMineR* (Husson et al., 2015), *ecodist* (Goslee & Urban, 2015) e *fields* (Nychka, 2015). A matriz de distância genética, F_{ST} par a par foi

construída no programa FSTAT 2.9.3.2 e adaptada para as análises que empregaram essa medida no programa R.

3.3.4.1 Análises implícitas da estrutura genética espacial

A técnica de ordenação, Análise de Componentes Principais (PCoA) foi realizada para avaliar padrões potenciais na distribuição da variabilidade genética, a partir dos valores de F_{ST} par a par, buscando reduzir a superfície multidimensional. Foi feita uma análise de correlação de Pearson com a primeira coordenada principal entre a latitude e longitude para buscar evidências da influência espacial. Posteriormente, os valores da primeira coordenada principal foram plotados em Mapas Sintéticos (Cavalli-Sforza et al., 1994) para visualização do comportamento da variabilidade genética ao longo da distribuição geográfica, utilizando redes de conexão de Gabriel (Gabriel & Sokal, 1969).

3.3.4.2 Análises espacialmente explícitas: correlações entre matrizes genética e geográfica

Associações entre a matriz de distância geográfica e genética (F_{ST} par a par) foram realizadas por meio do teste de Mantel simples (Mantel, 1967), a fim de verificar se existe padrão espacial na diferenciação genética. A significância do teste foi calculada por meio da distribuição nula, gerada pela aleatorização (com 10.000 permutações) dos elementos de uma das matrizes, recalculando a estatística Z de Mantel e contabilizando os valores que foram maiores que o observado (Diniz-Filho et al., 2013). Um correlograma de Mantel foi construído com sete classes de distâncias, com pares de populações conectados em cada classe de distância, para descrever o comportamento da variação genética ao longo da escala geográfica (Oden & Sokal, 1986). As classes de distâncias foram determinadas de acordo com o número de subpopulações, a fim de formar classes comparáveis entre si. Segundo Diniz-Filho et al. (2013), é recomendado que a cada 20 populações seja assumido cinco classes de distâncias, em que o número de subpopulações conectadas seja semelhante em cada classe de distância.

A metodologia de autocorrelação espacial para cada frequência alélica e a matriz de distância geográfica entre os pares de subpopulações de *H. stigonocarpa* foi empregada para avaliar padrões geográficos nesta variável genética. A autocorrelação

espacial foi medida pelo índice I de Moran, estatística comumente empregada em genética geográfica. A construção de um correlograma médio geral das frequências alélicas foi realizada para decompor a autocorrelação espacial em sete classes distâncias, com 10.000 permutações para analisar a influência do espaço na sua distribuição.

3.3.4.3 Descontinuidades genéticas e seleção de áreas para conservação

O algoritmo de Monmonier (Monmonier, 1973) foi utilizado para observar as possíveis descontinuidades genéticas existentes na distribuição espacial da diferenciação genética entre as subpopulações de *H. stigonocarpa*. Este algoritmo necessita de matrizes de distâncias genéticas e geográficas para investigar barreiras espaciais que possam maximizar a diferenciação genética entre subpopulações próximas (Manel et al., 2003). Assim, o algoritmo de Monmonier foi calculado, baseado nos valores de F_{ST} par a par, e visualizado no Mapa Sintético construído com os valores da primeira coordenada principal em que as subpopulações foram conectadas pela rede de Gabriel.

Outra análise realizada foi a seleção de áreas prioritárias para conservação. Essa abordagem teve por objetivo identificar possíveis subpopulações importantes, do ponto de vista da diversidade alélica, fornecendo informações para trabalhos futuros que visam tomar decisões sobre delimitação de estratégias de manejo e conservação. Para isso foi utilizado o algoritmo heurístico Greedy (“guloso”), baseado na complementariedade genética de áreas, ou seja, num primeiro momento é selecionada uma subpopulação que apresenta maior número de alelos e sequencialmente, a cada etapa, é adicionada subpopulações que complementem a diversidade genética existente (Diniz-Filho et al., 2005). Este método visa também estabelecer o menor número de subpopulações que preservem maior variabilidade genética para serem conservadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Transferibilidade genética dos locos microssatélites

Dos oito locos testados, seis foram transferidos com sucesso para *H. stigonocarpa*. Estes locos transferidos foram polimórficos para os 16 indivíduos analisados, em que o número de alelos variou de quatro para o loco Hym02 e 18 para Hym05 e riqueza alélica média de 9,4 alelos. A heterozigosidade média esperada e observada foi de 0,787 e 0,596, respectivamente, em que foram detectados níveis satisfatórios de diversidade genética. Os locos Hym05 e Hym06 foram mais polimórficos para *H. stigonocarpa* do que para *H. courbaril*, apresentando maior número de alelos, heterozigosidade esperada e observada. Enquanto o loco Hym02 teve diversidade genética bem inferior ao observado para esta mesma espécie (Buonamici et al., 2008). Entretanto os locos Hym03 e Hym11 foram retirados das análises, pois apresentaram padrões problemáticos que causariam erros de genotipagem. A Tabela 7 traz a caracterização dos quatro locos transferidos.

Tabela 7 – Caracterização dos marcadores microssatélites desenhados para *H. courbaril* e transferidos para *H. stigonocarpa*. (TA) Temperatura de anelamento, (A) Número de alelos, (A_R) Riqueza alélica, (H_E e H_O) Heterozigosidade esperada e observada.

Nº	Primer	Motivo	TA	A	A _R	H _E	H _O
1	Hym01	(CT) ₁₃	54°C	8	7,3	0,813	0,500
2	Hym02	(CA) ₁₇	58°C	4	3,5	0,292	0,188
3	Hym03	(CA) ₅ (CG) ₁₁ (CA) ₅ GA(CA) ₆	60 °C	11	11,0	0,927	0,636
5	Hym06	(CA) ₁₅	58°C	8	6,8	0,796	0,75
6	Hym11	(CA) ₁₁ (CT) ₁₆	50 °C	17	13,1	0,929	0,687
Média	-	-	-	11	9,4	0,787	0,596

A partir da transferibilidade genética foi fornecido um novo conjunto de locos polimórficos para *H. stigonocarpa* junto aquele caracterizado por Ciampi et al. (2008). Assim, atualmente estão disponíveis nove locos microssatélites para esta espécie, oriundo de amplificação cruzada. Dessa maneira para acessar a variabilidade genética de subpopulações de *H. stigonocarpa* foram otimizadas multiplex para análise em eletroforese capilar, considerando a amplitude alélica e fluorescência dos *primers forwards*. A Tabela 8 retrata a organização das multiplex resultantes para esta análise. A amplitude alélica

descrita nesta tabela foi obtida pela análise de poucos indivíduos, em que o aumento de indivíduos pode proporcionar novos alelos que não foram encontrados nestes testes iniciais.

Tabela 8 – Relação das multiplex empregadas para análise do locos microssatélites em *H. stigonocarpa*. A montagem dessas multiplex considera a fluorescência de cada *primer* e sua amplitude alélica.

Multiplex 01		
Primer	Sequência <i>Forward</i>	Amplitude alélica
Hc17 - F	HEX - TGATTTCATTCCCCTCTTGC	105-155
Hym02 - F	NED - AGGATTCAATACCTTCACACA	178-192
Hym06 - F	6FAM - TTAATCCCAATGTCTTCTGC	168-204
Multiplex 02		
Primer	Sequência <i>Forward</i>	Amplitude alélica
Hc42 - F	6FAM - TGGCTAAAAGTTGGGAGGGT	105-159
Hc40 - F	HEX - CCTCTCTCCCAAATTCACGA	159-207
Hc33 - F	NED - GAACAAATCAACTTTCTTTGAAGC	104-124
Multiplex 03		
Primer	Sequência <i>Forward</i>	Amplitude alélica
Hym01 - F	HEX - CCCTTCATCACATTCTCAAT	110-140
Hym05 - F	NED - TAGATGACCCTTTTGTGCTT	130-200
Hc14 - F	6FAM - CATTCTGCCATCGGTAGGTT	111-139

4.2 Diversidade genética dos locos microssatélites para *H. stigonocarpa*

Os parâmetros genéticos calculados para a caracterização dos locos microssatélites podem ser observados na Tabela 9. A partir dos nove locos microssatélites analisados nos indivíduos de *H. stigonocarpa* foi encontrado um número médio de 21 alelos, em que o máximo de alelos encontrado foi para o loco Hym05, com 38 alelos e mínimo para o loco Hc33, com quatro alelos, somando um total de 189 alelos. A Figura 12 mostra os gráficos da frequência alélica para cada loco avaliado, em que é possível observar a predominância de alguns alelos em cada loco e a presença de alelos raros (frequência menor que 0,005). Isto acontece principalmente nos locos Hym02, Hc14 e Hc33 com a predominância de um único alelo (179, 119 e 108, respectivamente). O Apêndice I mostra uma tabela com as frequências alélicas para cada loco.

Tabela 9 – Diversidade genética dos locos microssatélites utilizados para acessar a variação genética de *H. stigonocarpa*. Número de alelos (*A*); Amplitude alélica (*AM*); Heterozigosidade esperada (*H_E*) e observada (*H_O*); Probabilidade de identidade genética (*I*); Probabilidade de exclusão de paternidade (*Q*).

Loco	A	AM	H_E	H_O	I	Q
Hc14	12	115-139	0,538	0,325	0,227	0,359
Hc17	19	105-151	0,814	0,693	0,052	0,657
Hc33	4	108-114	0,241	0,121	0,601	0,110
Hc40	28	157-229	0,898	0,768	0,017	0,803
Hc42	34	107-185	0,754	0,577	0,085	0,573
Hym01	19	110-148	0,878	0,685	0,026	0,758
Hym02	10	169-207	0,231	0,212	0,599	0,128
Hym05	39	133-219	0,930	0,663	0,009	0,859
Hym06	24	162-208	0,727	0,608	0,106	0,523
Média	21	-	0,668	0,517	1,58 _E -10	0,9997668

A heterozigosidade média esperada e observada para os nove locos microssatélites foi de 0,668 e 0,517, respectivamente, indicando que há uma diversidade genética moderada para os indivíduos avaliados. Estes resultados são semelhantes aos encontrado por Ciampi et al. (2008), em que foi avaliado a transferibilidade dos locos microssatélites para *H. stigonocarpa*. Porém, neste mesmo trabalho os valores de diversidade genética foram maiores para *H. courbaril*, com heterozigosidade média esperada igual a 0,836 e observada de 0,687. Entretanto, isto é esperado quando se trata de locos transferidos, pois esta metodologia não garante os mesmos níveis de polimorfismo existentes na espécie em que os microssatélites foram desenhados (Oliveira et al., 2006). Isso está associado com as características dos microssatélites, pois o tamanho de cada motivo de repetição pode ser afetado por mutações que tornem a unidade repetitiva menor, o que influencia nas taxas de mutação e consequentemente nos níveis de polimorfismo (Ellegren, 2004; Barbará et al., 2007). No trabalho de Moraes et al. (2007) com *H. stigonocarpa*, utilizando locos microssatélites transferidos, foi evidenciado uma heterozigosidade média esperada de 0,633 e observada de 0,377, também semelhante com o que foi encontrado neste estudo. Estas informações denotam que esta espécie, apesar de apresentar um elevado número de alelos, possui uma diversidade genética moderada em relação aos marcadores microssatélites utilizados.

A endogamia total, considerando todos os locos pode ser relacionada com a existência de alelos nulos, provocando um aumento no número de homozigotos. Os alelos nulos são falhas de amplificação durante a PCR, em que um indivíduo heterozigoto amplifica apenas um dos alelos, formando assim um homozigoto aparente (Guichoux et al.,

2011). As causas responsáveis por isso podem ser mutacionais, tais como deleções de regiões no loco microssatélite ou *indels* nos locais de ligação do *primer*, impedindo assim que a amplificação ocorra (Varshney et al., 2005). Como os locos microssatélites utilizados para as análises são oriundos de transferibilidade, isso pode elevar alguns problemas de genotipagem, que são mitigados nos casos de microssatélites espécie-específicos.

A probabilidade de identidade combinada (I) de $1,575 \times 10^{-10}$ mostrou que a bateria de locos microssatélites utilizada é útil para discriminação entre indivíduos. Complementar a este parâmetro, a probabilidade de exclusão de paternidade combinada foi de 0,999766, demonstrando um valor alto para excluir uma possível falsa paternidade, por meio destes microssatélites. Assim, pode-se admitir que este conjunto de microssatélites é suficiente para a discriminação genética individual e para análises da variabilidade genética de *H. stigonocarpa*.

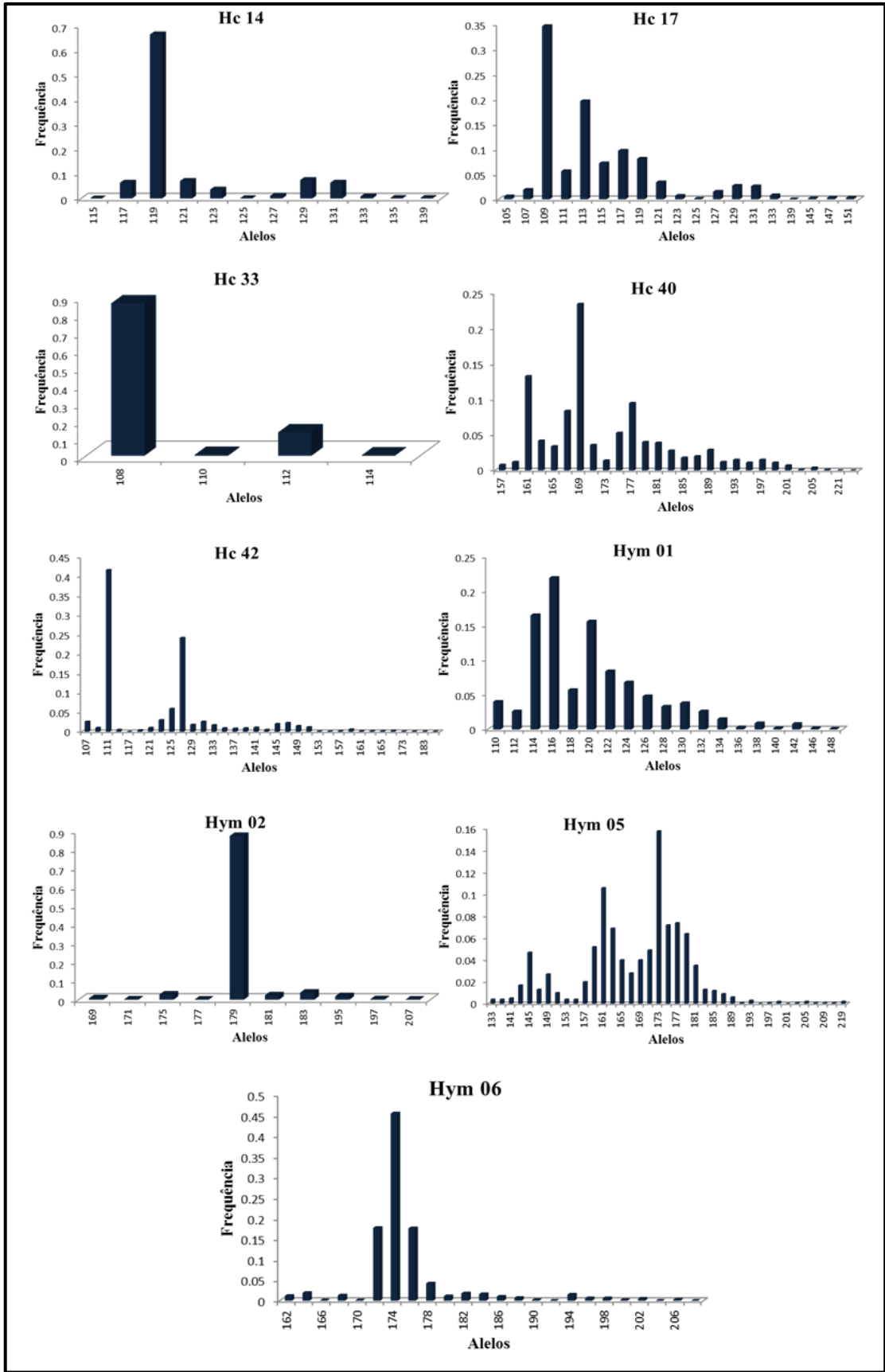


Figura 12 – Distribuição da frequência alélica obtida em cada loco microsatélite analisado para *H. stigonocarpa*.

4.3 Divergência genética entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa*

As três variedades botânicas de jatobá-do-cerrado foram caracterizadas geneticamente, como descrito nas Tabelas 10, 11 e 12.

Tabela 10 – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *stigonocarpa*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).

Subpopulações	N	A	A_R	H_E	H_O	f
L_HYSBJAGO	23	8,56	3,91	0,600	0,580	0,034
L_HYSELMS	19	5,44	3,25	0,619	0,540	0,127
L_HYSAGCMS	22	7,33	3,81	0,642	0,589	0,083
L_HYSBANMS	32	6,89	3,58	0,606	0,556	0,083
L_HYSSONMS	32	7,67	3,40	0,547	0,511	0,066
L_HYSPIRGO	10	4,67	3,30	0,583	0,578	0,008
L_HYSGCAMT	17	7,56	3,85	0,644	0,607	0,057
L_HYSJUSGO	27	7,22	3,44	0,591	0,601	-0,017
L_HYSAPOGO	12	5,67	3,68	0,637	0,630	0,012
L_HYSAGBMT	28	7,11	3,39	0,530	0,511	0,035
L_HYSPTUMG	32	6,22	3,16	0,548	0,503	0,082
L_HYSPIPMG	32	6,22	3,12	0,536	0,483	0,098
L_HYSJAPMG	17	5,11	3,12	0,522	0,438	0,161
L_HYSPERMG	8	3,78	3,01	0,535	0,468	0,125
L_HYSCOCMT	32	7,89	3,76	0,591	0,493	0,165*
L_HYSFORMG	11	4,44	2,97	0,486	0,413	0,150
Média	354	6,36	3,42	0,576	0,531	0,079

*Valores significativos, ajustados com a correção de Bonferroni ($p < 0,00014$).

Tabela 11 – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *pubescens*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).

Subpopulações	N	A	A_R	H_E	H_O	f
P_HYSBJAGO	9	4,22	3,04	0,495	0,457	0,076
P_HYSELMS	13	7,11	4,29	0,708	0,620	0,124
P_HYSPIRGO	22	6,67	3,27	0,553	0,510	0,078
P_HYSJUSGO	5	3,56	3,15	0,494	0,511	-0,034
P_HYSAPOGO	20	5,11	2,72	0,406	0,357	0,120
P_HYSAGBMT	4	3,22	3,22	0,514	0,445	0,135
P_HYSRVEBA	32	6,22	3,25	0,592	0,615	-0,039
P_HYSMOAGO	32	4,67	2,98	0,579	0,619	-0,070
P_HYSPLGGO	32	6,67	3,31	0,601	0,532	0,115
P_HYSRIAMG	32	6,11	2,91	0,475	0,412	0,133
P_HYSARAMG	32	6,11	3,02	0,516	0,528	-0,024
P_HYSBAMMG	32	5,56	3,06	0,528	0,451	0,147*
P_HYSCANMG	32	5,00	2,98	0,495	0,480	0,029
P_HYSCOGMG	32	7,11	3,29	0,557	0,531	0,046
P_HYSPOSGO	32	5,33	2,97	0,538	0,448	0,168*
P_HYSJAPMG	15	4,78	3,05	0,525	0,496	0,055
P_HYSPERMG	32	6,67	3,31	0,575	0,562	0,024
P_HYSARRTO	32	8,78	3,92	0,654	0,581	0,112
P_HYSFORMG	21	5,00	2,96	0,487	0,424	0,128
Média	461	5,68	3,19	0,542	0,504	0,070

*Valores significativos, ajustados com a correção de Bonferroni ($p < 0,00014$).

Tabela 12 – Caracterização da variabilidade genética das subpopulações da variedade *H. stigonocarpa* var. *brevipetiolata*, utilizando nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).

Subpopulações	N	A	A_R	H_E	H_O	f
PC_HYSAGCMS	10	5,67	3,99	0,707	0,633	0,105
PC_HYSGCAMT	15	6,78	3,99	0,675	0,535	0,207*
PC_HYSPRLMT	32	5,00	2,88	0,529	0,506	0,043
PC_HYSCUIMT	32	7,00	3,70	0,659	0,645	0,021
Média	89	6,11	3,64	0,643	0,580	0,094

*Valores significativos, ajustados com a correção de Bonferroni ($p < 0,00014$).

Um total de 185 alelos foi encontrado para as três variedades que apresentaram número médio de alelos igual 6,36, 5,68 e 6,11 para as variedades *stigonocarpa*, *pubescens* e *brevipetiolata*, respectivamente. O teste de comparação entre os grupos de amostras mostrou que não há diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as variedades botânicas para riqueza alélica, heterozigosidade esperada e observada e o índice de fixação f , mesmo que

o tamanho populacional tenha sido desigual entre elas. Assim sendo, a diversidade genética entre elas é similar, apresentando heterozigosidade média esperada 0,576, 0,542 e 0,643 e heterozigosidade média observada de 0,531, 0,504 a 0,580, nas seguintes variedades *stigonocarpa*, *pubescens* e *brevipetiolata*, na mesma ordem.

O coeficiente de endogamia f variou de -0,070 a 0,207 entre as três variedades botânicas, porém apenas em quatro subpopulações foi significativo, sugerindo baixos níveis de endogamia. Dos coeficientes de endogamia significativos, a subpopulação L_HYSCOCMT da variedade *stigonocarpa* obteve valor igual 0,165. Para a variedade *pubescens* duas subpopulações tiveram excesso de homozigotos, P_HYSBAMMG (0,147) e P_HYSPOSGO (0,168), enquanto a subpopulação PC_HYSGCAMT, da variedade *brevipetiolata* teve o maior índice de endogamia de 0,207.

A diversidade genética das variedades de jatobá-do-cerrado foi semelhante ao encontrado com outros trabalhos de genética de populações, utilizando marcadores microsatélites (Moraes et al., 2007; Ciampi et al., 2008; Moraes & Sebbenn, 2011). Porém vale ressaltar que estes estudos desconsideraram a subdivisão infraespecífica desta espécie. Um estudo de caracterização infraespecífica com variedades de *Lupinus microcarpus*, pertencente à família Fabaceae, mostrou níveis altos de heterozigosidade esperada, porém baixa heterozigosidade observada, causando desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, demonstrando que a endogamia é forte dentro das variedades botânicas (Drummond et al., 2007).

A análise da correlação de Pearson da altitude entre heterozigosidade esperada não foi diferente de zero, mas com a riqueza alélica foi observada uma correlação negativa e significativa (-0,312; $p \leq 0,05$). Mesmo com correlação baixa, percebe-se que possivelmente a altitude seja um fator importante para o comportamento da riqueza alélica entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa* ao longo de sua distribuição geográfica, em que há uma discreta diminuição da riqueza alélica com o aumento da altitude. A altitude pode ter influência na variação entre as variedades de jatobá-do-cerrado, pois aquelas subpopulações de *brevipetiolata* foram coletadas em locais de baixa altitude e como veremos adiante foi a que apresentou maior diferenciação genética (Chaves, comunicação pessoal).

A descrição da existência de alelos privados em cada variedade botânica e em cada loco é mostrada na Tabela 13. Para a variedade *stigonocarpa* foram identificados 14 alelos privados, seguida da variedade *pubescens* com nove alelos e a variedade

brevipetiolata com três alelos privados. Dentre os locos analisados, apenas o loco Hc33 não apresentou alelo privado para nenhuma variedade botânica. Os locos Hc42, Hym05 e Hym06 tiveram cinco alelos privados, seguindo pelo loco Hc17 com quatro, Hc14, Hc40, Hym01 com dois e Hym02 apenas com um alelo privado.

Tabela 13 – Alelos privados existentes em cada variedade botânica de *H. stigonocarpa*.

Variedade: <i>H. stigonocarpa</i> var. <i>stigonocarpa</i>			
Loco	Alelo	Frequência	Subpopulação
Hc14	115	0,022	L_HYSBJAGO
Hc14	139	0,091	L_HYSAGCMS
Hc40	229	0,018	L_HYSAGBMT
Hc40	221	0,018	L_HYSAGBMT
Hc42	153	0,018	L_HYSAGBMT
Hc42	167	0,118	L_HYSGCAMT
Hc42	185	0,047	L_HYSCOCMT
Hc42	183	0,031	L_HYSCOCMT
Hym1	148	0,031	L_HYSSONMS
Hym1	146	0,063	L_HYSBANMS
Hym5	203	0,045	L_HYSAGCMS
Hym5	201	0,016	L_HYSCOCMT
Hym5	191	0,016	L_HYSCOCMT
Hym6	166	0,031	L_HYSCOCMT
Variedade: <i>H. stigonocarpa</i> var. <i>pubescens</i>			
Loco	Alelo	Frequência	Subpopulação
Hc17	125	0,026	P_HYSAPOGO
Hc42	117	0,016	P_HYSBAMMG
Hym2	207	0,031	P_HYSPOSGO
Hym5	207	0,031	P_HYSARRTO
Hym5	195	0,016	P_HYSBAMMG
Hym6	204	0,016	P_HYSARRTO
Hym6	198	0,188	P_HYSARRTO
Hym6	192	0,016	P_HYSPOSGO
Hym6	200	0,063	P_HYSRVEBA
Variedade: <i>H. stigonocarpa</i> var. <i>brevipetiolata</i>			
Loco	Alelo	Frequência	Subpopulação
Hc17	139	0,016	PC_HYSCUIMT
Hc17	151	0,094	PC_HYSCUIMT
Hc17	145	0,063	PC_HYSCUIMT

Alelos privados são aqueles que somente ocorrem em uma única subpopulação quando um amplo conjunto de subpopulações é avaliado. Em microssatélites a formação de alelos privados é associada com o tamanho da unidade repetitiva, ocorrente nas

extremidades da sequência repetitiva (Szpiech & Rosenberg, 2011). Eles são úteis em estudos de ecologia molecular e conservação genética, pois tornam uma informação relevante para tomadas de decisão sobre seleção de locais prioritários para conservação. Outro ponto importante sobre os alelos privados é que eles podem refletir sobre a quantidade de fluxo gênico entre as subpopulações, contribuindo para a subdivisão genética populacional (Barton & Slatkin, 1986). Neste estudo, a procura por alelos privados refere-se aos níveis de diversidade genética entre as variedades botânicas de jatobá-do-cerrado, pois eles podem auxiliar na compreensão da estrutura genética infraespecífica. Alelos privados são importantes para a divergência genética intervarietal, pois eles podem indicar o quanto o fluxo gênico é restrito entre variedades. O trabalho de Drummond et al. (2007) identificou que alelos privados representaram mais de 40% da riqueza alélica e que isto advém de uma divergência genética recente entre as duas variedades de *L. microcarpus*. Os alelos privados encontrados neste presente trabalho constituem 14% de todos os alelos, o que pode ser suficiente para arranjar diferentemente as frequências alélicas dentro de variedades.

Os resultados obtidos com a análise de variância molecular hierárquica podem ser visualizados na Tabela 14, que descreve a divergência genética encontrada entre as variedades botânicas em diferentes níveis hierárquicos.

Tabela 14 – Variação genética obtida pela AMOVA para as 39 subpopulações de *H. stigonocarpa*, separadas de acordo com a variedade botânica pertencente.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados (SQ)	Componentes de Variância	Porcentagem de Variação
Entre Variedades (F_{CT})	2	256,019	0,204	6,527
Entre subpopulações dentro de variedades (F_{SC})	36	715,314	0,380	12,149
Entre indivíduos dentro de subpopulações (F_{IS})	862	2319,391	0,174	5,571
Entre indivíduos (F_{IT})	901	2117,000	2,370	75,752
Total	1801	5407,724	3,128	-

É possível verificar que 75,752% da variação total são encontrados na fonte de variação de indivíduos (F_{IT} = 0,242; $p<0,001$). A diferenciação genética entre subpopulações dentro de variedades foi alta e explica 12,149% de toda a variação genética (F_{SC} = 0,129; $p<0,001$). A endogamia foi relativamente baixa, entretanto positiva e significativa (F_{IS} = 0,068; $p<0,001$). Além disso, 6,527% são explicados entre variedades

($F_{CT} = 0,065$; $p < 0,001$), demonstrando que a divergência genética entre as variedades é baixa, porém significativa e deve ser levada em conta.

Examinando os valores obtidos de F_{ST} par a par, *brevipetiolata* foi fortemente diferenciada quando comparada com as subpopulações de *stigonocarpa* e *pubescens*, com maior F_{ST} par a par médio igual a 0,244. O valor máximo de F_{ST} par a par encontrado (0,412; $p < 0,05$) foi entre as subpopulações PC_HYSPRLMT (variedade *brevipetiolata*) e P_HYSAPOGO (variedade *pubescens*) e o mínimo encontrado (0,002; não significativo) foi entre L_HYSJAPMG (variedade *stigonocarpa*) e P_HYSJAPMG (variedade *pubescens*), com essas duas subpopulações coexistindo na mesma localidade, Japonvar-MG. O Apêndice II traz a tabela com o F_{ST} par a par entre as variedades para uma análise geral.

Por meio da análise AMOVA foi evidenciado significativa diferenciação genética entre as variedades botânicas de jatobá-do-cerrado e isso é um dado importante para estudos taxonômicos, pois esse polimorfismo infraespecífico pode influenciar no comportamento populacional desta espécie. A variedade *brevipetiolata* mostrou forte diferenciação genética entre todas as outras subpopulações, analisando o F_{ST} par a par, e isso sugere mais estudos de delimitação taxonômica dessas variedades, pois esse é um indício importante para dados botânicos e ecológicos.

A inconsistência taxonômica existente entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa* foi avaliada por Pestana et al. (2010), que propuseram a sinonização das variedades *pubescens* e *brevipetiolata*, pois a distinção morfológica entre elas não é suficiente para a correta identificação. Entretanto, os resultados aqui descritos salientam que há necessidade de rever melhor a delimitação dos táxons infraespecíficos de *H. stigonocarpa*, devido a significativa diferenciação genética entre as suas variedades, obtida pela AMOVA. Junto a isso, outros autores avaliando o crescimento de plântulas das variedades *stigonocarpa* e *brevipetiolata* observaram diferenças nas fases de plântula e juvenil, funcionando como caracteres para identificação taxonômica desses táxons (Kodoma & Sartori, 2007).

Num estudo de filogeografia com marcadores cloroplastidiais em 17 populações de *H. stigonocarpa*, a rede de haplótipos formada mostrou que três haplótipos foram prevalentes, distribuídos de acordo com a região geográfica (Ramos et al., 2007). As diferenças entre esses três grupos geográficos foram avaliadas por meio de uma AMOVA, que revelou uma variação alta entre grupos, $F_{CT} = 0,558$ ($p < 0,01$), entre populações dentro

de grupos $F_{ST} = 0,692$ ($p < 0,01$) e dentro de populações $F_{SC} = 0,252$ ($p < 0,01$). Neste caso, a variação genética existente, formando os três haplótipos principais, foi atribuída à distribuição geográfica e não devido à subdivisão intervarietal. Vale ressaltar que, a estrutura genética foi verificada apenas com uma sequência cloroplastidial, *psbC/trnS3*, o que pode não ter acessado de fato a variabilidade genética desta espécie e os indivíduos caracterizados não foram identificados em qual variedade botânica são pertencentes.

A divergência genética entre variedades de *Hancornia speciosa*, conhecida popularmente como mangaba e com ocorrência no Cerrado, foi averiguada com a análise AMOVA e apontou pequena, mas significativa divergência entre elas ($F_{CT} = 0,035$; $p < 0,001$). A diferenciação genética foi acessada entre quatro das seis variedades botânicas dessa espécie e os resultados sugeriram que *H. speciosa* var. *speciosa* se mostrou mais diferente quando comparadas com as outras (Rodrigues et al., 2015). Este trabalho mostra que os microssatélites foram eficientes em estimar a divergência genética, o que tornam úteis para salientar variação genética dentro de um mesmo táxon.

Outra importante investigação de divergência genética intervarietal foi realizada com a espécie *Metrosideros polymorpha*, endêmica do Hawái, onde fatores ambientais como altitude, tempo de colonização das ilhas e atividade vulcânicas foram sugeridos como responsáveis para intensificar a estruturação genética entre as variedades botânicas. A divergência genética entre variedades foi de 0,065 e significativa, com a variedade *polymorpha* a mais fortemente diferenciada, localizada em regiões das ilhas com maiores altitudes. Enquanto que as variedades *incana* e *glaberrima* possuem fraca diferenciação genética, pois já foram registrados intermediários destas duas em locais de mesma altitude (DeBoer & Stacy, 2013). A altitude também pode ser um fator importante para a divergência genética entre as variedades de jatobá-do-cerrado, visto que a análise de correlação de Pearson verificou que a riqueza alélica tem relação negativa com o aumento da altitude.

O dendrograma gerado (Figura, 13), utilizando a distância genética de Nei (1972) entre as subpopulações das variedades botânicas, permite a visualização gráfica do padrão de divergência genética entre as subpopulações das variedades botânicas. Este dendrograma obteve correlação cofenética igual 0,886 e significativa. Esse coeficiente de correlação cofenética demonstra que o dendrograma é relativamente suficiente para representar a matriz de distância genética original. Junto a isso, o método UPGMA é o mais empregado em análises de agrupamento, pois ele, na maioria dos casos, fornece

valores de correlação cofenética mais satisfatórios em comparação a outros métodos de agrupamento (Saraçlı et al., 2013). Analisando o dendrograma, é possível observar que houve a separação em dois grupos principais, ao qual o primeiro agrupamento é composto por três, das quatro subpopulações de *brevipetiolata*, favorecendo a ideia de que esta variedade é bastante diferenciada em relação à *stigonocarpa* e *pubescens*. Porém, a consistência dos nós foi pouca satisfatória, em que somente aqueles nós com valor superior a 80% são satisfatórios.

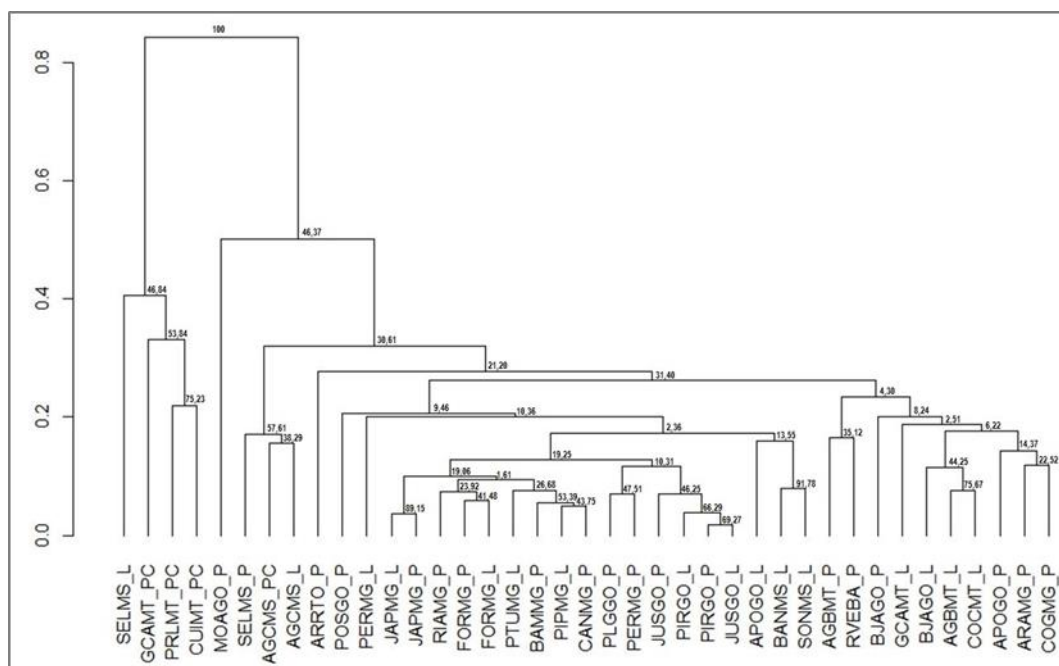


Figura 13 – Dendrograma obtido pelo método UPGMA, utilizando como matriz de dissimilaridade a distância genética de Nei (1972) para investigar divergência genética entre as variedades botânicas de *H. stigonocarpa*. (L) Variedade Lisa; (PC) Variedade de Pecíolo Curto e (P) Variedade Pilosa. A correlação cofenética foi igual a 0,886. A consistência dos nós, indicada pelos números em porcentagem, foi obtida por 10.000 *bootstraps*.

A estatística de agrupamento Bayesiana desenvolvida no STRUCTURE (Figuras 14 e 15) sustenta a existência de divergência genética entre a variedade *brevipetiolata* em relação às variedades *stigonocarpa* e *pubescens*, acessada pela AMOVA e pelo método UPGMA. Isso comprova que as frequências alélicas e genotípicas não são arranjadas aleatoriamente entre as variedades botânicas. A Figura 14 traz o gráfico do melhor K, obtido com o método de Evanno et al. (2005), denotando que as subpopulações das variedades botânicas de *H. stigonocarpa* foram agrupadas em dois grupos. Com a Figura 14 é possível observar como os dois grupos de frequências alélicas estão organizados e distinguidos pela a formação de um grupo com as subpopulações das

variedades *stigonocarpa* e *pubescens* e outro com as subpopulações de *brevipetiolata*. Essa atribuição foge à diferença morfológica de *H. stigonocarpa* em três variedades, mas propõe apenas dois grupos principais.

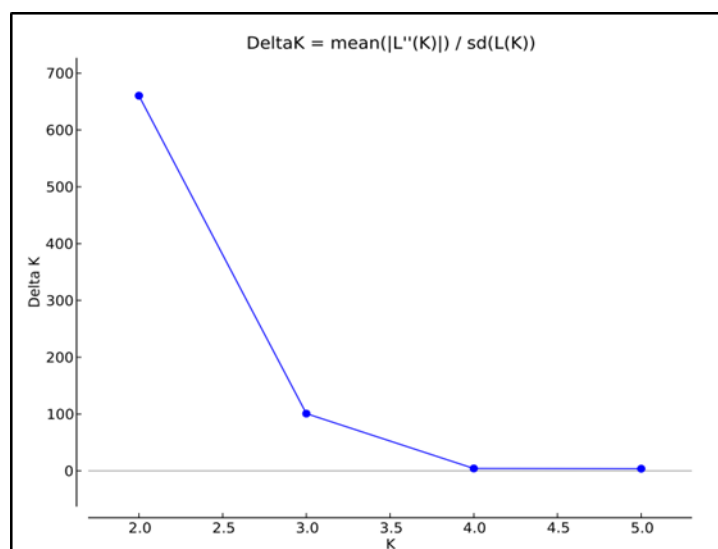


Figura 14 – Número do K grupos que explica o agrupamento das subpopulações das variedades de jatobá-do-cerrado, por meio do método de Evanno et al. (2005). O melhor K obtido foi K= 2.

A partir do gráfico da Figura 15 é observado que as subpopulações PC_HYSPRLMT e PC_HYSCUIMT, compostas unicamente pela variedade *brevipetiolata* foram fortemente divergentes, com baixo coeficiente de coancestria (Q), destacado pela pequena proporção de indivíduos advindos das subpopulações do agrupamento constituído com as subpopulações das variedades *stigonocarpa* e *pubescens*. Para as localidades de Água Clara-MS e General Carneiro-MT que apresentam simpatria entre as variedades *stigonocarpa* e *brevipetiolata* mostraram elevados coeficientes de coancestria que é visualizado pela intensa introgressão de indivíduos nessas subpopulações. Como as análises admitiram o modelo *admixture model* há a possibilidade que indivíduos participem da constituição genética de cada subpopulação, ou seja, a existência de fluxo gênico, que é quantificada pelo coeficiente de cada indivíduo (Q) (Pritchard et al., 2000). Provavelmente, nas áreas simpátricas entre as variedades botânicas há introgressão genética que pode diminuir a diferenciação genética entre elas (Minder & Widmer, 2008).

A subpopulação L_HYSSELMS pertencente à variedade *stigonocarpa* tem frequências alélicas mais semelhantes com as subpopulações de *brevipetiolata*, como destacado na Figura 15. Isto se torna uma questão interessante, pois coloca outra hipótese sobre a correlação das frequências alélicas que se refere à ocorrência de intermediários

entre as variedades *stigonocarpa* e *brevipetiolata* nesta localidade, mas que deve ser melhor pesquisada, tomando por base novas amostragens para sua confirmação. Portanto, juntamente com as subpopulações de Água Clara-MS, General Carneiro-MT e Selvíria-MS sugerem área de hibridação entre essas variedades, que são apoiadas pela evidência de coancestria existente. Este mesmo fato ocorreu para variedades de *Casearia sylvestris*, mas que apresentou forte divergência genética, em que os autores colocaram a duplicação genômica como fonte possível de origem da divergência genética (Caballero et al., 2010).

De forma geral as análises no programa STRUCTURE, levando em conta seus principais pressupostos, equilíbrio de Hardy-Weinberg, desequilíbrio de ligação, *admixture model* e correlação das frequências alélicas, confirmaram a divergência genética entre as variedades de *H. stigonocarpa*. É nítido que as variedades *stigonocarpa* e *pubescens* são semelhantes geneticamente, formando um grupo único, enquanto que a maior variação genética se deve à variedade *brevipetiolata*. Assim, este programa foi útil para acessar a variabilidade genética dos indivíduos e atribuí-los aos grupos, de acordo com a frequência alélica e genotípica.

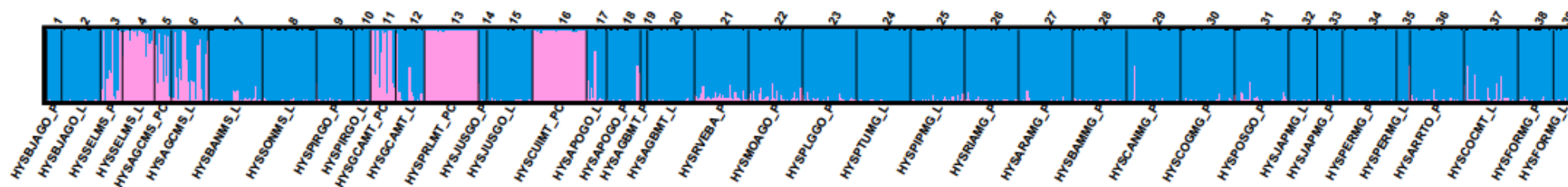


Figura 15 – Estrutura genética das 39 subpopulações de *H. stigonocarpa*, separadas de acordo com a variedade botânica pertencente. Os resultados extraídos do programa STRUCTURE 2.3.4 foram analisados no CLUMMP 1.1.2 e DISTRUCT 1.1 para a construção deste gráfico de barras. As duas cores representam os K grupos encontrados pela análise Bayesiana, em que cada linha vertical representa um indivíduo, no eixo inferior contém o nome de cada subpopulação.

Como proposto, análises independentes de AMOVA foram conduzidas para acessar a divergência genética intervartietal e identificar qual variedade botânica contribuiu para a maior variação. A Tabela 15 sintetiza o que foi obtido nessa estrutura de análise, trazendo as estatísticas calculadas, adaptada de Clemente et al. (2009). A quantificação da diferenciação genética dentro de indivíduos (F_{IT}) foi a estatística que explica a maior variação encontrada e foi significativamente diferente de zero em todas as combinações realizadas. A variação genética entre subpopulações dentro das variedades (F_{SC}) é alta em todas as comparações, contudo é menor quando a variedade *brevipetiolata* é analisada isoladamente das outras. Assim, mostra que as subpopulações de *stigonocarpa* e *pubescens* tendem a ser mais parecidas quando analisadas em um único grupo. A endogamia foi baixa, porém significativa em todos os agrupamentos (F_{CT} = 0,069; $p<0,001$).

Quando a variedade *brevipetiolata* foi comparada em um grupo isolado entre *stigonocarpa* e *pubescens*, juntas em outro grupo encontrou-se a maior diferenciação genética entre variedades, com porcentagem de variação de 18,230% (F_{CT} = 0,338; $p<0,001$), confirmando o que foi encontrado pela metodologia do STRUCTURE e que ela foi útil para a atribuição genética dos indivíduos de jatobá-do-cerrado. A análise de *stigonocarpa* versus *pubescens* e *brevipetiolata* não foi estatisticamente diferente de zero para F_{CT} . A variedade *pubescens* contribuiu com pouco mais de 1% para a variação genética (F_{CT} = 0,010; $p<0,001$), valor bem inferior ao obtido com *brevipetiolata*. Estas análises comparativas foram interessantes para identificar qual a variedade botânica é a fonte de maior variação genética, oferecendo maior confiabilidade para os dados.

Tabela 15 - Variação genética obtida pelas diversas AMOVA's dos agrupamentos analisados, avaliando qual variedade botânica de *H. stigonocarpa* contribui para a maior diferenciação genética intervarietal. Valores em negritos são significativos.

Combinações dos agrupamentos	Entre Variedades			Entre subpopulações dentro dos variedades			Entre indivíduos dentro das subpopulações			Dentro de indivíduos		
	Var	%	F _{CT}	Var	%	F _{SC}	Var	%	F _{IS}	Var	%	F _{IT}
var. <i>brevipetiolata</i> x vars. <i>stigonocarpa</i> e <i>pubescens</i>	0.652	18.230	0.338*	0.382	10.681	0.131*	0.174	4.870	0.069*	2.370	66.219	0.338*
var. <i>stigonocarpa</i> x vars. <i>pubescens</i> e <i>brevipetiolata</i>	0.007	0.233	0.002	0.498	16.337	0.164*	0.174	5.715	0.069*	2.370	77.715	0.223*
var. <i>pubescens</i> x vars. <i>stigonocarpa</i> e <i>brevipetiolata</i>	0.032	1.033	0.010**	0.485	15.856	0.160*	0.174	5.693	0.069*	2.370	77.417	0.226*

*Significativos (p<0,001)

**Significativo (p<0,05)

O estudo de dados genéticos em *H. stigonocarpa*, considerando essa subdivisão taxonômica é ausente na literatura, por isso este trabalho aumenta o conhecimento acerca desta espécie e possibilita a realização de novas pesquisas nesse sentido. Entretanto, a delimitação taxonômica em *H. stigonocarpa*, mesmo observando considerável divergência genética intervarietal, utilizando marcadores microssatélites, torna-se uma tarefa que exige maiores detalhamentos. Essa problemática envolve conceitos de biologia evolutiva e processos de especiação, buscando na Sistemática Filogenética, Filogeografia e na Taxonomia Tradicional ferramentas para complementar os resultados encontrados. Este trabalho pode auxiliar botânicos, ecólogos, geneticistas de populações e taxonomistas a rever a classificação da espécie, visto que esta denota inconsistência taxonômica. A última revisão do gênero *Hymenaea* foi feita por Lee & Langenheim (1975) *apud* Moreno, (2009) e Pestana et al. (2010) caracterizou taxonomicamente *H. stigonocarpa*, *H. courbaril* e *H. martiana*, considerando suas variedades. Porém, o acesso a essa informação é basicamente por caracteres macromorfológicos que podem ser imprecisos na delimitação de táxons infraespecíficos. Portanto o presente estudo é um avanço, devido o emprego de marcadores moleculares, que são úteis para discriminar o polimorfismo entre indivíduos, populações e espécies (Hartl & Clarck, 2010).

4.4 Estrutura Genética Populacional

Os nove locos microssatélites foram úteis em detectar a variabilidade genética da espécie em estudo, fornecendo informações sobre a estrutura genética populacional para as 32 subpopulações de *H. stigonocarpa*. Na Tabela 16 são apresentados os valores das medidas genéticas descritivas para cada subpopulação.

Tabela 16 – Variabilidade genética das 32 subpopulações de *H. stigonocarpa* por meio dos nove locos microssatélites. Tamanho populacional (N); Número médio de alelos (A); Riqueza alélica média (A_R); Heterozigosidade média esperada (H_E) e observada (H_O); Coeficiente médio de endogamia (f).

Nº	Localidade	Subpopulação	N	A	A_R	H_E	H_O	f
1	Bom Jardim-GO	HYSBJAGO	32	9,0	7,9	0,586	0,545	0,069
2	Selvíria-MS	HYSSELMS	32	8,3	7,3	0,687	0,574	0,165*
3	Água Clara-MS	HYSAGCMS	32	8,6	7,5	0,673	0,602	0,105
4	Bandeirantes-MS	HYSBANMS	32	6,9	6,2	0,606	0,556	0,083
5	Sonora-MS	HYSSONMS	32	7,7	6,7	0,547	0,511	0,066
6	Pires do Rio-GO	HYSPIRGO	32	7,2	6,3	0,564	0,531	0,058
7	General Carneiro-MT	HYSGCAMT	32	9,8	8,6	0,728	0,577	0,207*
8	Primavera do Leste-MT	HYSPLMT	32	5,0	4,5	0,529	0,506	0,043
9	Jussara-GO	HYSJUSGO	32	7,8	6,7	0,578	0,587	-0,016
10	Cuibá-MT	HYSUIMT	32	7,0	6,4	0,659	0,645	0,021
11	Aporé-GO	HYSAPOGO	32	7,8	6,8	0,556	0,466	0,162*
12	Água Boa-MT	HYSAGBMT	32	7,9	6,9	0,537	0,503	0,063
13	Mozarlândia-GO	HYSMOZGO	32	8,3	7,3	0,530	0,499	0,057
14	Jaraguá-GO	HYSJARGO	34	5,3	4,9	0,526	0,450	0,145
15	Roda Velha-BA	HYSRVEBA	32	6,2	5,5	0,592	0,615	-0,039
16	Monte Alegre-GO	HYSMOAGO	32	4,7	4,4	0,579	0,619	-0,070
17	Planaltina de Goiás-GO	HYSPLGGO	32	6,7	5,9	0,601	0,532	0,115*
18	Paracatu-MG	HYSPTUMG	32	6,2	5,6	0,548	0,503	0,082
19	Pirapora-MG	HYSPIPMG	32	6,2	5,5	0,536	0,483	0,098
20	Riachinho-MG	HYSRIAMG	32	6,1	5,3	0,475	0,412	0,133*
21	Araguari-MG	HYSARAMG	32	6,1	5,3	0,516	0,528	-0,024
22	Bambuí-MG	HYSBAMMG	32	5,6	5,0	0,528	0,451	0,147*
23	Candeias-MG	HYSCANMG	32	5,0	4,8	0,495	0,480	0,029
24	Comendador Gomes-MG	HYSOOGMG	32	7,1	6,3	0,557	0,531	0,046
25	Posse-GO	HYSPOSGO	32	5,3	4,8	0,538	0,448	0,168*
26	Japonvar-MG	HYSJAPMG	32	5,7	5,2	0,523	0,465	0,111
27	Perdizes-MG	HYSPERMG	40	7,0	6,0	0,573	0,545	0,048
28	Arraias-TO	HYSARRTO	32	8,8	7,6	0,654	0,581	0,112
29	São Miguel do Araguaia-GO	HYSSMAGO	32	6,9	5,9	0,430	0,435	-0,011
30	Porangatu-GO	HYSPOARGO	32	6,6	5,8	0,501	0,415	0,172*

<i>continuação</i>								
Nº	Localidade	Subpopulação	N	A	A _R	H _E	H _O	f
31	Cocalinho-MT	HYSCOCMT	32	7,9	7,2	0,591	0,493	0,165*
32	Formoso-MG	HYSFORMG	32	6,0	5,3	0,492	0,422	0,142*
Total		-	1034	6,9	6,1	0,563	0,516	0,083

A caracterização das 32 subpopulações de *H. stigonocarpa* mostrou que o número médio de alelos foi igual a 6,9 e a riqueza alélica média foi de 6,1 por população, variando entre 4,7 e 4,4 para a subpopulação de HYSMOAGO (Monte de Alegre de Goiás) e 9,0 e 7,9 na subpopulação HYSBJAGO (Bom Jardim-GO). A heterozigosidade média esperada e observada foi de 0,563 e 0,516, respectivamente, variando entre 0,430 (HYSSMAGO) e 0,728 (HYSGCAMT) para heterozigosidade média esperada e 0,415 (HYSPORGO) e 0,645 (HYSCUIMT) para a heterozigosidade média observada. Os níveis moderados de heterozigosidade observados para as subpopulações podem ser vinculados a alelos que exibem alta frequência e assim diminuem o número de heterozigotos (Nei, 1978), como observado no trabalho de Collevatti et al., 2001 com *Caryocar brasiliense*. Isto pode ser visto nos histogramas das frequências alélicas da Figura 12, em que a maioria dos locos analisados teve a prevalência de um alelo, como é caso dos locos Hc 14, Hc 33 e Hym 02.

O índice de fixação variou entre -0,070 a 0,207, porém a diferença entre H_E e H_O foi significativa em 10 subpopulações destacadas na Tabela 16, indicando um excesso de homozigotos, devido à alta endogamia intrapopulacional. O teste Exato de Fischer mostrou que todos os locos não atenderam às proporções esperadas sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg em pelo menos três subpopulações, no caso do loco Hym02 e 22 subpopulações para o loco Hym05. Todos os valores desta estatística estão descritos no Apêndice III. A análise entre pares de locos mostrou que dos 36 pares de locos analisados, 33 não estão em desequilíbrio de ligação.

A análise da estruturação genética pelas estatísticas *F* de Wright (1951) encontrou um *f* positivo de 0,082, bem como F_{ST} de 0,161 e F_{IT} de 0,230, todos significativos com *p*<0,01. O valor global de endogamia intrapopulacional (*f*) foi relativamente baixo, porém a significativa endogamia dentro das subpopulações pode ser associada a cruzamentos não aleatórios entre indivíduos aparentados, ocorrentes nessa espécie. Cruzamentos entre aparentados são possíveis, devido à alta densidade de indivíduos, formando reboleiras e favorecendo a visitação em árvores próximas pelos

polinizadores (Defavari et al., 2009). A visitação sistemática pode ocorrer em uma mesma árvore, pois durante a antese muitas flores de jatobá-do-cerrado estão disponíveis para polinização, favorecendo o forrageamento em um único indivíduo (Gibbs et al., 1999). Além disso, o índice de fixação dentro de indivíduos em relação à população total (F_{IT}) foi alto, revelando que as subpopulações não formam uma única população panmítica.

As subpopulações avaliadas apresentaram moderada diferenciação genética entre elas, demonstrando que 16% da variabilidade genética estão estruturados entre as subpopulações. A diferenciação genética medida pelo F_{ST} indica que as frequências alélicas são diferentes quando comparadas entre as subpopulações, causando uma subdivisão da variabilidade genética (Holsinger & Weir, 2009). Outros trabalhos de genética de populações com *H. stigonocarpa*, avaliando progênies, encontraram coeficientes de coancestria entre plantas com valores próximos ao encontrado no presente estudo, como podemos observar na Tabela 17. Isso mostra que há uma diferenciação genética interpopulacional significativa para esta espécie, provavelmente relacionada com cruzamentos entre aparentados (Moraes et al., 2007). A espécie congênica, *H. courbaril* também obteve valores altos de coancestria de 0,187 e logo uma diferenciação genética populacional alta entre plantas dentro de famílias.

Tabela 17 – Coeficientes de Coancestria obtidos para a *H. stigonocarpa* em outros trabalhos disponíveis na literatura.

Marcadores moleculares utilizados	<i>n</i>	θ	Referência
Alozímicos	69	0,250*	Defavari et al. (2009)
Microsatélites nucleares	310	0,157*	Moraes et al. (2007)
Microsatélites nucleares	208	(0,173) – (0,225)**	Moraes et al. (2011)

*: P-valor significativo; **: Valores para árvores em população e progênies, respectivamente.

A comparação dos valores de diferenciação genética entre populações observada para jatobá-do-cerrado é semelhante ao visto para outras espécies do Cerrado, com forte estruturação genética entre suas populações (Telles et al., 2001; Zucchi et al., 2004; Batistini et al., 2009; Barbosa et al., 2015). Barbosa et al. (2015) em um trabalho de larga escala geográfica, abrangendo grande parte da distribuição de *E. dysenterica*, outra espécie ocorrente no bioma Cerrado e que torna-se comparável a este, verificaram significativa estruturação genética populacional, com F_{ST} de 0,175, próximo ao encontrado

neste trabalho. Porém, outra espécie do Cerrado, *Solanum lycocarpum* e da família Fabaceae teve uma baixa diferenciação genética, F_{ST} de 0,033 (Moura et al., 2012).

A partir da biologia reprodutiva da espécie era esperada uma diferenciação interpopulacional menor, pois a maior parte dos cruzamentos em *H. stigonocarpa* ocorre por fecundação cruzada e sua polinização é realizada por agentes quiropterófilos e dispersão de sementes por zoocoria (Gibbs et al, 1999; Moraes & Sebbenn, 2011). A espécie *Glossophaga soricina*, específica na polinização da espécie, sobrevoa longas distâncias, alcançando uma área de vida de até 890 ha (Aguilar et al., 2014), o que mantém populações distantes conectadas por fluxo gênico. Entretanto, isto indica que o fluxo gênico não está sendo capaz de diminuir a diferenciação genética entre as subpopulações. Dessa maneira, poderia atribuir à deriva genética o motivo da estruturação genética, mas o cálculo do R_{ST} sugere que a mutação também tem forte influência na diferenciação genética em *H. stigonocarpa*. Assim, um equilíbrio deriva-mutação pode agir para dirigir a estruturação genética entre as subpopulações.

Assim como o F_{ST} , o R_{ST} foi diferente de zero e apresentou alta diferenciação genética sob o modelo *stepwise* (0,221; $p < 0,01$). O valor obtido para o R_{ST} foi bem maior que o encontrado pelo F_{ST} , demonstrando que esta última medida subestimou a diferenciação genética entre as subpopulações. Além disso, o R_{ST} maior que o F_{ST} indica que a mutação é o principal processo microevolutivo responsável pela estruturação das frequências alélicas entre as subpopulações. Collevatti et al. (2001) também encontrou valor maior de R_{ST} para subpopulações de *C. brasiliense*, concluindo que as taxas de mutações nas regiões microssatélites sobrepôs a força da deriva genética e fluxo gênico para estruturação genética entre as subpopulações. É interessante estimar a estatística de R_{ST} , pois quando comparado ao F_{ST} ajuda a inferir com mais acurácia qual o processo microevolutivo é responsável pela subdivisão encontrada (Balloux et al., 2000). Todos os locos microssatélites usados para este trabalho são regiões com repetições dinucleotídicas, sequências repetitivas com maiores taxas de mutações, pois são mais promissoras aos eventos de *slippage* (Buschiazzo & Gemmell, 2006). Isso pode ter influenciado na quantificação do R_{ST} , demonstrando que a mutação é uma força importante para a subdivisão populacional.

Analisando a Figura 12 com os gráficos da distribuição das frequências alélicas de todos os locos percebe-se muitos alelos com baixa frequência, que podem causar uma diferenciação populacional de acordo com a ocorrência em cada população. Neste caso, os

alelos raros presentes em baixa frequência e em populações distintas podem elevar a diferenciação genética entre elas. Indivíduos isolados provavelmente trazem alelos raros, consequentemente são fontes de variabilidade genética baixa, devido o excesso de autofecundação e com alelos que diferem da população como um todo.

Essa subdivisão da variabilidade genética deve-se aos desvios das frequências alélicas e genotípicas (Nagylaki, 1998), mostrando que o fluxo gênico não é suficiente para homogeneização genética das subpopulações, como visto em populações de *E. dysenterica*, que apresentou forte diferenciação genética entre populações, devido à força da deriva genética (Zucchi et al., 2004). Assim, outras forças evolutivas, tais como mutação e/ou deriva genética são responsáveis por esta estrutura. Entretanto, independentemente da estatística adotada foi possível verificar que as subpopulações são bastante diferenciadas entre si, utilizando marcadores microssatélites, levando a buscar novas análises que explicam essa diferenciação genética.

4.5 Padrão Espacial da Variabilidade Genética

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) mostrou que 23,54% da variação é explicada pela primeira coordenada principal, junto com a segunda coordenada principal respondem por apenas 37,49% da variação. Na Figura 16 é possível perceber o gráfico gerado com a análise de PCoA e o Mapa Sintético, plotado com os valores da primeira coordenada principal. O gráfico principal de PCoA mostra que as subpopulações agruparam em um único grupo principal, porém os indivíduos da subpopulação de Monte Alegre-GO se mostraram mais diferentes, pois esta apresentou F_{ST} par a par médio bastante elevado, igual a 0,227. Analisando o Mapa Sintético um padrão espacial implícito é visualizado na primeira coordenada principal, quando plotado na rede de Gabriel.

Para investigar esse padrão foram feitas correlações com a latitude, longitude entre a primeira coordenada principal. Essa análise encontrou que apenas a longitude possui correlação negativa e significativa com a primeira coordenada principal ($r = -0,47$; $p = 0,007$), mostrando que o gradiente longitudinal tem influência na distribuição do F_{ST} par a par, como destacado na Figura 17. Isto indica que a heterogeneidade espacial possa ser um componente importante para a organização da diferenciação genética em *H. stigonocarpa*. Técnicas de ordenação, tais como a PCoA são ferramentas úteis para auxiliar

na compreensão da organização dos dados, fornecendo informações no estudo da estruturação genética (Anderson & Willis, 2003).

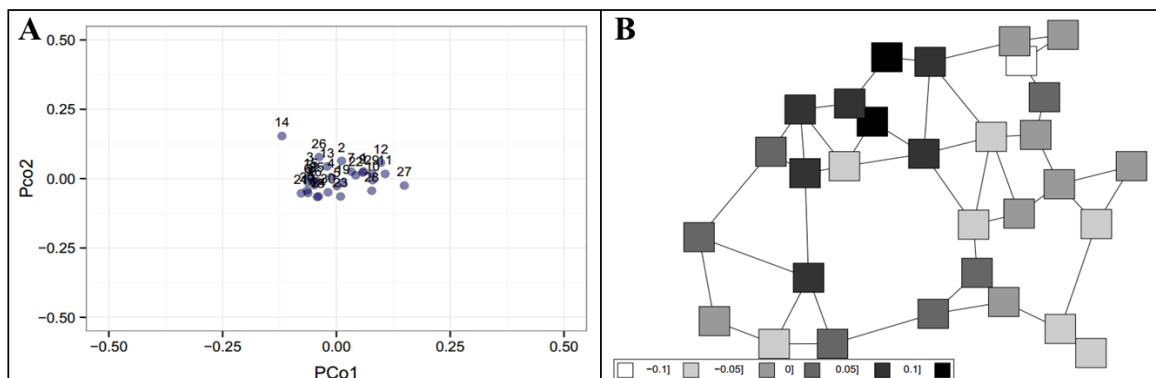


Figura 16 – Resultados obtidos com a análise de PCoA para as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*. (A) Gráfico com a primeira e segunda coordenada principal, mostrando como as subpopulações foram ordenadas. (B) Mapa Sintético da primeira coordenada principal, com base nos valores de F_{ST} par a par.

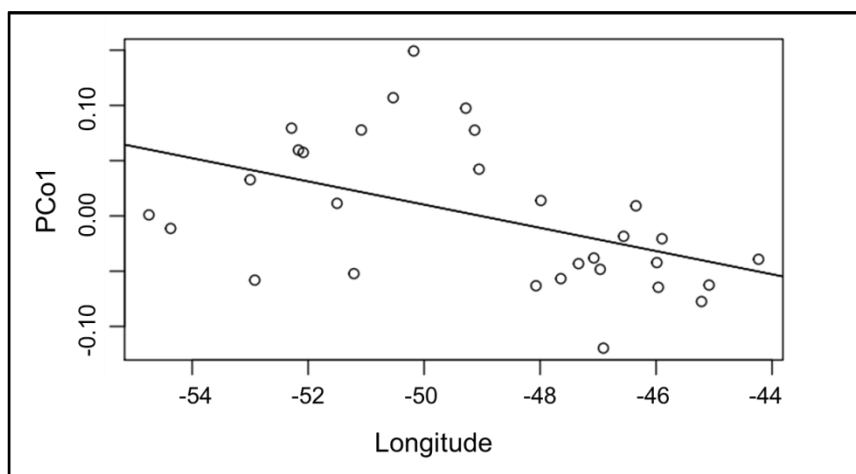


Figura 17 – Gráfico de correlação entre a primeira coordenada principal e a longitude, considerando as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.

A partir das análises de PCoA foi observado que o componente espacial têm participação na distribuição da variabilidade genética, o que é corroborado pelo Teste de Mantel simples. A correlação matricial entre as distâncias geográfica e genética foi relativamente baixa, porém significativa ($r_m = 0,239$; $p = 0,0014$), mostrando que a diferenciação genética não é fortemente estruturada ao longo de um contínuo geográfico (Figura 18). A baixa influência espacial é vista pelo coeficiente de determinação, $R^2 = 0,057$ e diz que apenas 5,76% da divergência genética são explicados pelo componente

geográfico. O histograma da Figura 19 mostra a distribuição das permutações gerada sob a hipótese nula para determinar a significância do teste de Mantel.

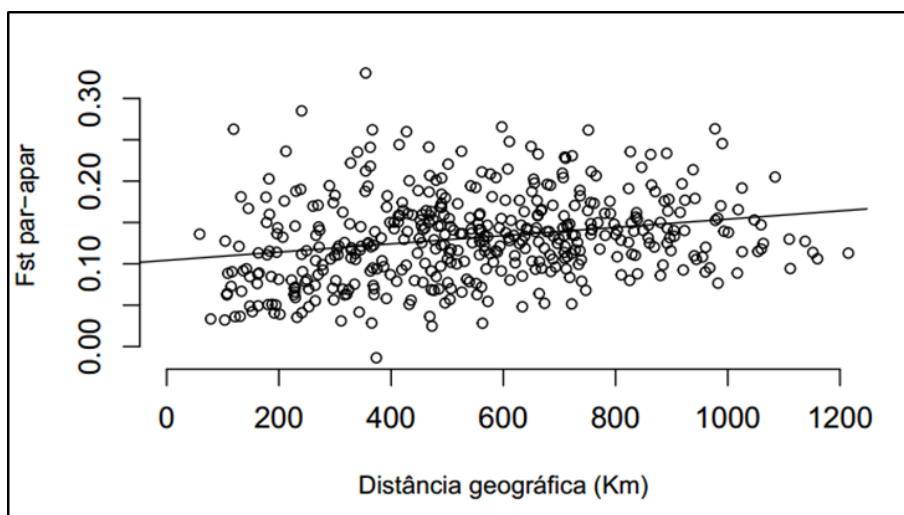


Figura 18 – Relação entre as distâncias genética (F_{ST} par a par) e geográfica existente entre as 30 subpopulações de jatobá-do-cerrado. A correlação matricial ($rm=0,239$; $p<0,0014$) foi significativa, obtida pelo teste de Mantel com 10000 permutações aleatórias.

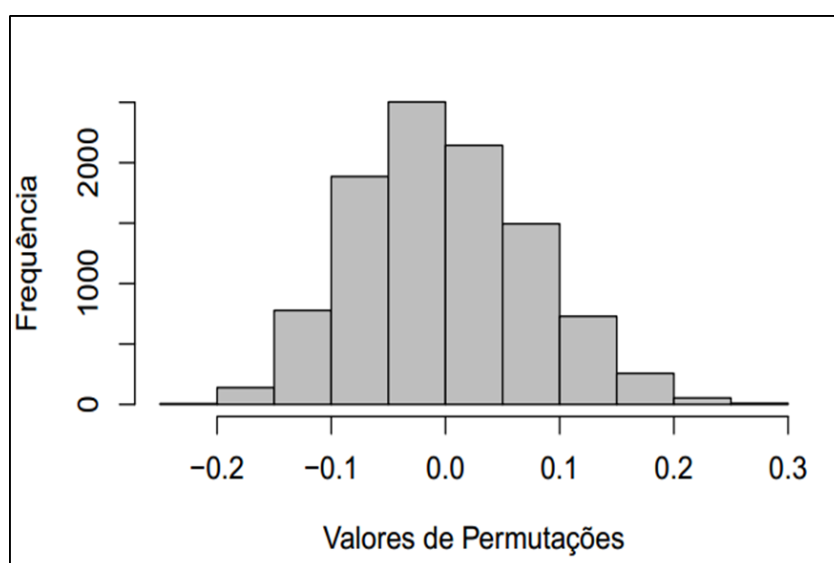


Figura 19 – Histograma das permutações realizadas sob a hipótese nula para verificar a significância do teste de Mantel, em que 13 valores foram maiores que o valor rm observado ($rm= 0,239$; $p= 0,0014$).

O correlograma de Mantel, que é uma decomposição da matriz de distância geográfica em classes de distâncias, evidenciou que na primeira e penúltima classe a correlação matricial foi significativa, como pode ser visualizado na Figura 20, mesmo com baixa correlação da distância geográfica entre a diferenciação genética. Este correlograma

identificou um padrão clinal, sugerindo a ocorrência de isolamento por distância entre as subpopulações de *H. stigonocarpa*, ou seja, decaimento da semelhança genética com progressivo aumento da escala geográfica. Dentro dessa decomposição que o correlograma oferece da distância geográfica, nota-se que as subpopulações tendem a ser mais similares na primeira classe de distância em 114 Km ($rm = 0,213$; $p < 0,05$) e mais diferentes na sexta classe de distância cerca de 760 Km ($rm = -0,100$; $p < 0,05$). Na Tabela 17, as classes de distâncias determinadas mostram que houve um número semelhante de pares de subpopulações conectadas, o que permite que elas sejam comparáveis entre si.

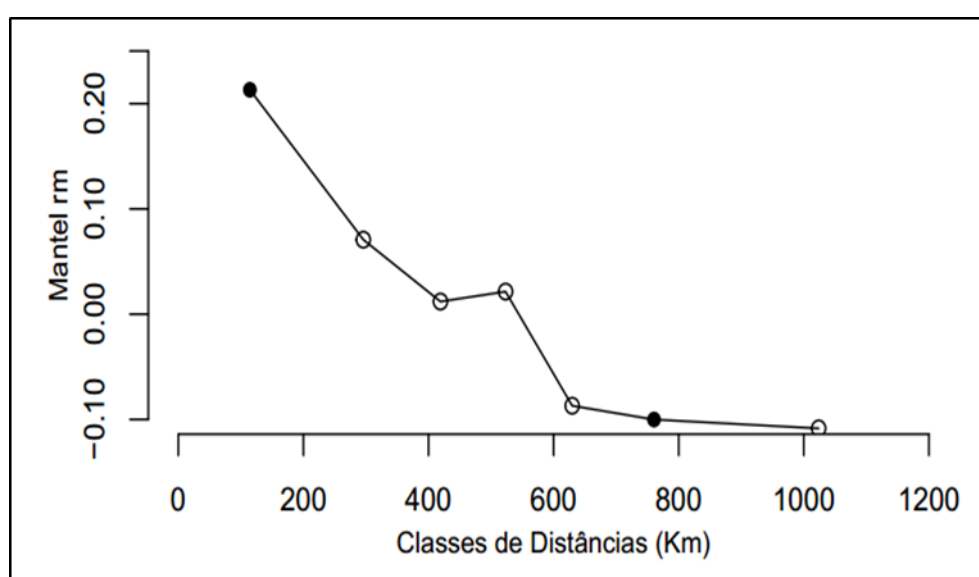


Figura 20 – Correlograma de Mantel a partir da matriz de F_{ST} par a par, considerando sete classes de distâncias e 10.000 permutações. Os pontos preenchidos no correlograma foram significativos ($p < 0,05$), sendo que o rm global foi de 0,239 ($p = 0,0014$).

Tabela 18 – Descrição das classes de distâncias utilizadas para a construção do correlograma de Mantel, com 10000 permutações.

Classe	Classe (Km)	Subpopulações por Classe	Mantel rm	p	Limite Inferior	Limite Superior
1	114.433	50	0.213	0.001	0.140	0.296
2	295.807	64	0.071	0.182	0.008	0.144
3	419.086	64	0.012	0.811	-0.051	0.070
4	523.243	64	0.021	0.647	-0.029	0.080
5	629.685	65	-0.087	0.070	-0.133	-0.043
6	760.497	64	-0.100	0.032	-0.145	-0.057
7	1023.806	64	-0.109	0.157	-0.165	-0.055

Com a análise de autocorrelação espacial nas frequências alélicas foi gerado um correlograma espacial médio significativo (Figura 21), porém com baixa autocorrelação ($rm = 0,053$; $p = 0,0005$). Dos 184 índices I de Moran médios calculados para cada frequência alélica 54 foram significativos ao nível de 5%. O valor máximo de I de Moran encontrado foi igual a 0,396 e o mínimo foi -0,103. Os correlogramas médios em cada classe distância apresentaram coeficientes I de Moran baixos (Tabela 18), resultando num correlograma médio geral com autocorrelação espacial baixa, mostrando que a distribuição das frequências alélicas é fracamente estruturada no espaço, pois é observado a ausência de um padrão espacial nítido.

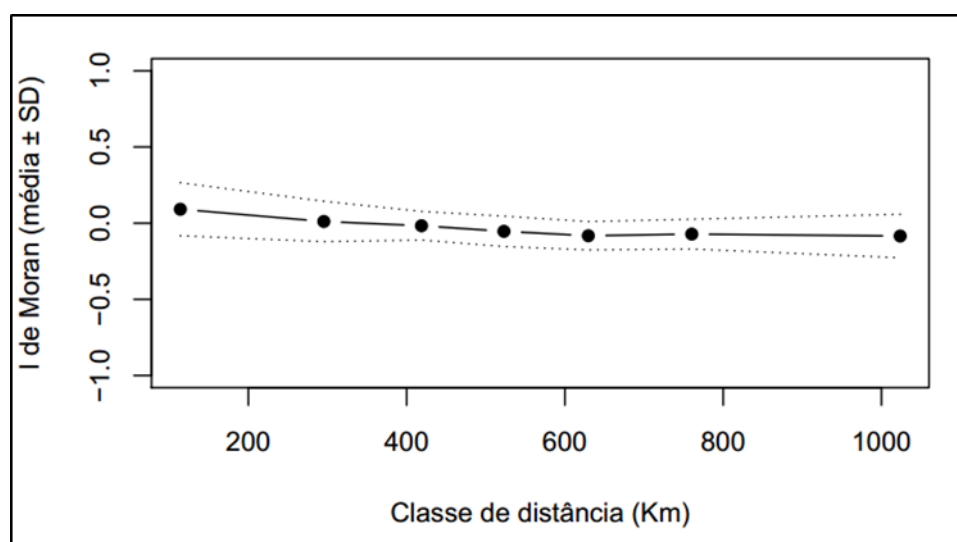


Figura 21 – Correlograma médio dos valores I de Moran, obtido a partir da autocorrelação espacial das frequências alélicas dos 184 alelos existentes para *H. stigonocarpa*. A autocorrelação espacial foi de 0,053 ($p = 0,0005$), calculada com 10.000 permutações.

Tabela 19 – Coeficiente I de Moran para cada correlograma espacial médio em cada classe de distância para as 184 frequências alélicas observada nas 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.

Classe	Classe (Km)	Correlograma Médio	±SD
1	114.000	0.089	0.173
2	295.366	0.007	0.127
3	418.748	-0.020	0.095
4	522.924	-0.055	0.100
5	629.563	-0.081	0.094
6	760.307	-0.068	0.097
7	1023.686	-0.079	0.141

Certamente, a pequena influência do componente geográfico, como foi visto pelo teste de Mantel, seja o motivo pelo qual a autocorrelação espacial das frequências alélicas entre os pares de localidades tenha sido tão baixa. Entretanto, o correlograma de Mantel identificou um padrão por isolamento por distância (Wright, 1943), pois a diferenciação genética, acessada pelo F_{ST} , diminui com o aumento da distância geográfica. Porém, inferir quais fatores evolutivos atuam na geração de padrões espaciais nas frequências alélicas não é uma tarefa simples. Isso acontece porque diversos processos estocásticos podem influenciar nos padrões de diferenciação genética (Sokal & Jacquez 1991).

Ao observar o intercepto do correlograma de Mantel, estabelecido em torno de 550 Km mostra que as populações são mais próximas para distâncias geográficas abaixo disso. Isto é interessante, pois mesmo com um padrão clinal da diferenciação genética, subpopulações situadas a longas distâncias ainda compartilham semelhanças genéticas entre si. Em vista disso, nota-se a formação de *patches* diferentes acima e abaixo do intercepto do correlograma.

A similaridade genética até longas distâncias denotam que provavelmente os mecanismos de polinização e dispersão de sementes são suficientes para manter a conexão entre as subpopulações, visto que este trabalho abrange uma ampla área de distribuição da espécie e tem informação em larga escala geográfica. Lima et al. (2015) constataram fraca estruturação genética espacial intrapopulacional em *Tibouchina papyrus*, destacando a eficiência do fluxo gênico a longas distâncias. O modo de vida e sistema reprodutivo são fatores importantes para influenciar a estrutura genética espacial (Collevatti et al., 2010).

Com o gráfico da relação entre distância geográfica e genética e o correlograma é possível perceber que o componente espacial não é o principal fator dessa estruturação genética, já que as subpopulações são mais parecidas numa distância de até 550 Km. Nesta perspectiva, vale lembrar que o F_{ST} global calculado entre as 30 subpopulações foi de 0,135, inferior ao calculado quando todas as 32 subpopulações foram consideradas, incluindo aquelas da variedade *brevipetiolata*, com F_{ST} de 0,161. Isto sugere que a diferenciação genética está sendo influenciada não apenas pela heterogeneidade espacial, mas também pela divergência genética intervietal.

Além do mais, como este estudo compreende uma extensa área de Cerrado, um bioma altamente fragmentado, a exploração indevida da sua biodiversidade torna-se uma causa potencial para que as subpopulações de *H. stigonocarpa* não sejam conectadas

geneticamente, pois diminui o alcance do fluxo gênico via pólen e sementes. Essa problemática foi vista em subpopulações de *Eugenia dysenterica*, relacionada ao intenso desmatamento para expansão agrícola em áreas de Cerrado, dificultando a dispersão de sementes por animais especializados (Telles et al., 2001).

A estrutura genética espacial intrapopulacional de *H. stigonocarpa* foi investigada com marcadores alozímicos, avaliando como o coeficiente de coancestria (θ) se comporta entre os indivíduos na área de estudo (Defavari et al., 2009). Os autores detectaram uma forte estruturação genética espacial em indivíduos caracterizados como irmãos-completos ($\theta = 0,250$) até 2 m de distância. Neste caso, eles atribuíram ao baixo fluxo gênico e efeito fundador para a diminuição da proximidade genética, visto que a endogamia com estes marcadores foi bastante alta.

Outras possíveis explicações dos padrões espaciais são eventos históricos que ao longo do tempo organiza a distribuição das frequências alélicas (Sokal & Oden, 1978b). Neste sentido, estudos anteriores de filogeografia propõem que para jatobá-do-cerrado a divergência genética entre as suas subpopulações é oriunda de fatores históricos, durante as mudanças climáticas no período Quaternário. Diante disso, os autores colocam que os eventos glaciais nesta época levaram à extinção dessa espécie em extensões atuais do Cerrado, localizadas nas regiões Sudeste. Entretanto, a menor severidade na redução da temperatura nas regiões Norte e Leste do Cerrado, possibilitou a permanência de algumas subpopulações, que foram responsáveis pela recolonização de outras áreas de Cerrado, após o restabelecimento das condições climáticas, sugerindo a existência de polimorfismo ancestral (Ramos et al., 2007; Ramos et al., 2009).

Nesta perspectiva, reduções demográficas com isolamentos populacionais na última época glacial, interferindo no fluxo gênico pode ser uma hipótese que justifica a baixa autocorrelação espacial, pois há pouca similaridade nas frequências alélicas entre subpopulações próximas. Assim, o isolamento por distância e padrões demográficos podem explicar os padrões da diferenciação genética para *H. stigonocarpa* em escala espaço-temporal, como observado em *E. dysenterica*, outra espécie do bioma Cerrado (Barbosa et al., 2015). Essa hipótese deve ser avaliada com mais ferramentas, tais como modelagem de nicho ecológico, em que é possível remontar os cenários do passado e como eles influenciam na dinâmica populacional atual (Collevatti et al., 2013).

O algoritmo de Monmonier identificou descontinuidades genéticas entre as subpopulações localizadas no extremo Norte da área de distribuição do Cerrado, como

visto na Figura 22. A descontinuidade genética foi estabelecida nas subpopulações de Monte Alegre-GO, Arraias-TO e São Desidério-BA entre as outras 27 subpopulações. O F_{ST} par a par médio dessas três subpopulações em relação às demais é de 0,166, mostrando que elas são as mais diferenciadas geneticamente. A subpopulação de Monte Alegre-GO também se mostrou mais diferente com as análises de PCoA, entretanto mesmo que esta metodologia tenha encontrado possíveis descontinuidades genéticas nesta região, esse resultado é pouco contundente.

Analizando a área geográfica destas subpopulações, existe a Serra Geral de Goiás, no Vão do Paranã, com profundas declividades, que pode funcionar como uma barreira física que propicia maior diferenciação genética delas com as outras subpopulações. Porém, as subpopulações de Posse-GO e Planaltina de Goiás-GO, que estão compreendidas na mesma microrregião do Vão do Paranã, não foram incluídas, o que seria esperado. Esta região é formada principalmente por Florestas Estacionais Deciduais que apresentam peculiaridades em relação à composição de solo que é rico em nutrientes, tornando um fator atuante na diferenciação genética, mas que não pode ser acessada com marcadores microssatélites, pois são regiões neutras do genoma (Hermuche, 2010). A inserção de subpopulações distribuídas nas regiões norte da do Cerrado poderão auxiliar na melhor compreensão deste resultado. Telles et al. (2003) obtiveram resultados ambíguos com o algoritmo de Monmonier, pois na verdade a descontinuidade seria um artefato da metodologia e que mais estudos na área colocada como a barreira genética devem ser realizados.

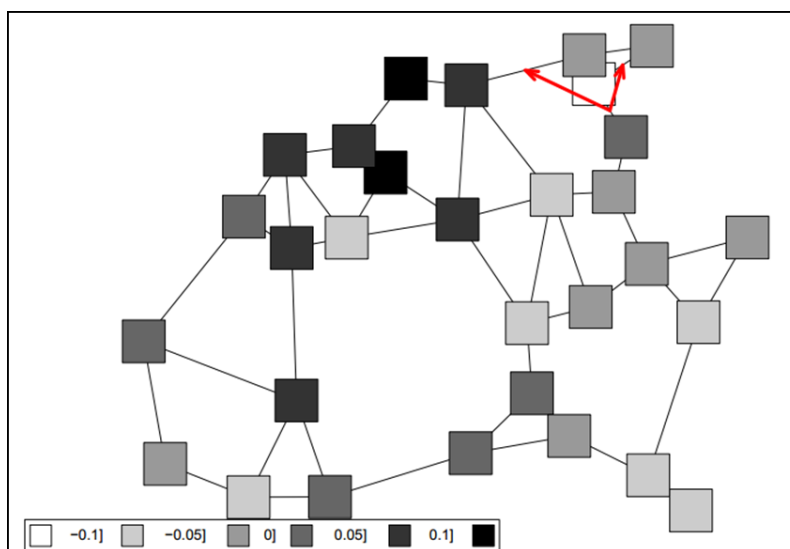


Figura 22 – Descontinuidade genética de acordo com o algoritmo de Monmonier, destacado pela seta em vermelho, plotada na rede de Gabriel a partir do resultado encontrado na PCoA com os valores de F_{ST} par a par entre as 30 subpopulações de *H. stigonocarpa*.

O algoritmo Greedy encontrou que das 30 subpopulações analisadas, 16 são potencialmente viáveis para conservação, pois apresentam complementariedade genética, ou seja, essas localidades representam bem a riqueza alélica da espécie *H. stigonocarpa*. Destas 16 localidades, 13 são prioritárias para conservação, como a Figura 23 destaca. A Tabela 19 traz informações genético-populacionais importantes que poderão auxiliar na tomada de decisão e estratégias para conservação *in situ* das 16 subpopulações.

Nesta tabela é possível perceber que os indivíduos da localidade de Cocalinho-MT obteve o maior número de alelos, complementada pelas as outras subpopulações. Porém, esta subpopulação possui heterozigosidade observada relativamente baixa, refletindo em alta endogamia significativa. Outras quatro localidades, Selvíria-MS, Posse-GO, Jaraguá-GO e Porangatu-GO tiveram desvios entre heterozigosidade esperada e observada, causando excesso de homozigotos. Isto é relevante, pois essas subpopulações apresentam maiores chances de depressão endogâmica, o que é uma questão importante durante os programas de conservação (Caballero et al., 2010).

Os marcadores microssatélites são ferramentas úteis para auxiliar na identificação de populações com elevada diversidade genética, bem como avaliar o comportamento da variabilidade genética nas populações, oferecendo critérios para a sua conservação (Antiqueira, 2013). Diniz-Filho et al. (2012) identificaram subpopulações de *Dipteryx alata* viáveis para conservação por meio da metodologia *Systematic Conservation Planning* (SCP) ao analisar a diversidade alélica oriunda de marcadores microssatélites.

Este trabalho foi bastante interessante, pois além de identificar as subpopulações que representassem bem a riqueza alélica de *D. alata* também foram propostas quais dessas subpopulações complementaria a coleção de germoplasma dessa espécie, existente na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

Assim, estes resultados são pertinentes para selecionar áreas de coleta de germoplasma para conservação *ex situ* e *in situ*, pois são baseados na variabilidade genética das subpopulações (Schlottfeldt et al., 2015). Além disso, a estrutura genética espacial associada a estes resultados pode ser uma boa ferramenta para auxiliar nos objetivos de programas de conservação. Por exemplo, o correlograma de Mantel encontrou correlação positiva na primeira classe de distância e negativa nas últimas classes, o que permite delinear as etapas de coleta para conservação *in situ* e *ex situ*. Telles et al. (2003) aplicaram o teste de Mantel e com a construção do correlograma observaram que para populações de *E. dysenterica* uma distância mínima de 120 Km, revelado pelo intercepto no correlograma, deve ser importante para a conservar a diversidade genética da espécie. Assim, a utilização desta metodologia aliada às estatísticas espaciais torna-se uma ferramenta útil para a aplicação de medidas conservacionistas.

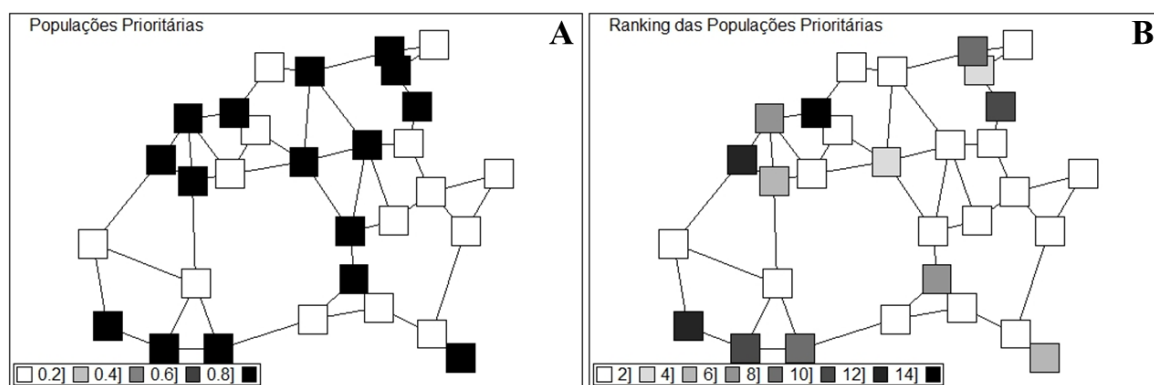


Figura 23 – Mapas Sintéticos com os resultados obtidos com o algoritmo Greedy para a seleção de áreas prioritárias para a conservação. (A) Destaque em preto para as 16 subpopulações que representam a riqueza alélica de *H. stigonocarpa* pelo método de complementariedade. (B) *Ranking* entre as subpopulações selecionadas, mostrando em tons mais escuros aquelas que possuem maior riqueza alélica.

Tabela 20 – Caracterização genética das 16 subpopulações de *H. stigonocarpa* selecionadas como prioritárias para conservação.

Ranking para conservação	Localidade	Número de Alelos representativos	A_R	H_E	H_O	<i>f</i>
1	Cocalinho-MT	38	6.8	0.591	0.493	0.165*
2	Bandeirantes-MS	20	5.9	0.606	0.556	0.083
3	General Carneiro-MT	12	7.4	0.644	0.607	0.057
4	Selvíria-MS	9	6.8	0.687	0.574	0.165*
5	Posse-GO	7	4.6	0.538	0.448	0.168*
6	Água Clara-MS	6	6.7	0.642	0.589	0.083
7	Arraias-TO	5	7.0	0.654	0.581	0.112
8	Água Boa-MT	4	6.4	0.537	0.503	0.063
9	Araguari-MG	4	4.9	0.516	0.528	-0.024
10	Bom Jardim-GO	3	7.3	0.586	0.545	0.069
11	Candeias-MG	2	4.6	0.495	0.480	0.029
12	Jaraguá-GO	2	4.7	0.589	0.503	0.145*
13	Jussara-GO	1	6.2	0.583	0.592	-0.016
14	Japonvar-MG	1	4.9	0.571	0.508	0.111
15	Monte Alegre de Goiás-GO	1	4.2	0.579	0.619	-0.070
16	Porangatu-GO	1	5.4	0.501	0.415	0.172*

*Significativo com a correção de Bonferroni (p=0,0019)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A execução deste trabalho permitiu obter resultados importantes para a espécie de *H. stigonocarpa*, mostrando-se útil para entender o seu comportamento em populações naturais. Assim, fica evidente a importância de estudos no contexto genético-populacional.

De forma geral:

- i. Os testes de transferibilidade possibilitou aumentar o número de locos microssatélites para acessar a diversidade genética de *H. stigonocarpa*.
- ii. Os resultados obtidos com a AMOVA e técnicas de agrupamento constataram que a variedade *brevipetiolata* é a mais diferenciada geneticamente entre as três variedades de jatobá-do-cerrado, tornando uma evidência para estudos de delimitação de espécies .
- iii. Em nível populacional, houve estruturação genética significativa, principalmente entre as subpopulações de *H. stigonocarpa* e com alta endogamia total, causada tanto por deriva e mutação genética.
- iv. A estrutura genética espacial foi fraca, porém um padrão clinal foi encontrado para a diferenciação genética ao longo de um contínuo geográfico. A autocorrelação espacial das frequências alélicas foi baixa, sugerindo que o componente espacial tem pouca influência na sua organização.
- v. O algoritmo de Monmonier sugeriu a existência de descontinuidade genética entre as subpopulações do extremo Norte do Cerrado, indicando que a Serra Geral de Goiás do Vão do Paranã contribui para essa diferenciação, mas este resultado é pouco contundente por não englobar outras subpopulações presentes nesta região.
- vi. O algoritmo Greedy selecionou 16 subpopulações potenciais para a conservação genética, a partir da riqueza alélica. Este procedimento junto às análises espaciais configure-se numa ferramenta eficaz para definição de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* de *H. stigonocarpa*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-HAMEED, U. K.; EL-MAGLY, U. I.; ISHAK, I. F.; TANTAWY, M. E. A contribution to the specification of Caesalpinioideae (L) based on morphological and molecular criteria. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 2, p. 120-127, 2013.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies úteis vegetais**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998, 464 p.
- AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 4, 617-631, 2008.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; ROBERTO FONTES VIEIRA, R. F.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. Espécies de maior relevância para a região Centro-Oeste. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M (Ed.). **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, cap. 1, 2006, p. 12-24.
- AGUIAR, L. M. S.; BERNARD, E.; MACHADO, R. B. Habitat use and movements of *Glossophaga soricina* and *Lonchophylla dekeyseri* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Neotropical savannah. **Zoologia**, v. 31, n. 3, p. 223-229, 2014.
- AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, v. 17, 5177–5188, 2008.
- AQUINO, F. G.; AGUIAR, L. M. S. Caracterização e conservação da biodiversidade do bioma Cerrado. In: FALEIRO, F. G.; SOUSA, E. S. (Ed.). **Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007, cap. 2, p. 27-32.
- ANDERSON, M. J.; WILLIS, T. J. Canonical Analysis of Principal Coordinates: a Useful Method of Constrained Ordination for Ecology. **Ecology**, v. 84, n.2, p. 511–525, 2003.
- ANTIQUERA, L. M. O. R. Application of microsatellite molecular markers in studies of genetic diversity and conservation of plant species of Cerrado. **Journal of Plant Sciences**, v. 1, n.1, p. 1-5, 2013.
- BALLOUX, F.; LUGON-MOULIN, N.; HAUSSER, J.; Estimating gene flow across hybrid zones: how reliable are microsatellites ? **Acta Theriologica**, v. 45, n. 1, p. 93-101, 2000 .
- BANDEL, G. Chromosome Numbers and Evolution in the Leguminosae. **Caryologia**, v. 27, n. 1, p. 15-32, 1974.

BARBARÁ, T.; PALMA-SILVA, C.; PAGGI, G. M.; BERED, F.; FAY, M. F.; LEXER, C. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. **Molecular Ecology**, V. 16, P. 3759–3767, 2007.

BARBERI, A.; CARNEIRO, M. A. C.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Nodulação em leguminosas florestais em viveiros no sul de Minas Gerais. **Cerne**, v.4, n.1, p.145-153, 1998.

BARBOSA, A. C. O. F.; COLLEVATTI, R. G.; CHAVES, L. J.; GUEDES, L. B.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C. Range-wide genetic differentiation of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) populations in Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 288-296, 2015.

BARTON, N. H.; SLATKIN, M. A Quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. **Heredity**, v. 56, p. 409-415, 1986.

BATISTINI, A. P.; TELLES, M. P. C.; BERTONI, B. W.; COPPEDE, J. S.; MÔRO, F. V.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity of natural populations of *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) in the Cerrado of São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 1, p. 52-63, 2009.

BERTORELLE, G.; BARBUJANI, G. Analysis of DNA Diversity by Spatial Autocorrelation. **Genetics**, v. 140, p. 811-819, 1995.

BIONDO, E.; MIOTTO, S. T. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Números cromossômicos e implicações sistemáticas em espécies da subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) ocorrentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.28, n.4, p.797-808, 2005.

BIVAND, R.; ALTMAN, M.; ANSELIN, L.; ASSUNÇÃO, R.; BERKE, O.; BERNAT, A.; BLANCHET, G.; BLANKMEYER, E.; CARVALHO, M.; CHRISTENSEN, B.; CHUN, Y.; Carsten DORMANN, C.; DRAY, S.; GÓMEZ-RUBIO, V.; HALBERSMA, R.; KRAINSKI, E.; LEGENDRE, P.; LEWIN-KOH, N.; LI, H.; MA, J.; MILLO, G.; MUELLER, W.; ONO, H.; PERES-NETO, P.; PIRAS, G.; REDER, M.; TIEFELSDORF, M.; YU, D. Spatial Dependence: Weighting Schemes, Statistics and Models. **Package ‘spdep’ (Version 0.5-88)**, 2015.

BOCARD, D.; GILLET, F.; LEGENDRE, P. **Numerical Ecology with R**. Springer, New York, 2011, 319p.

BOTELHO, S. A.; FERREIRA, R. A.; MALAVASI, M. M.; ANTONIO CLAUDIO DAVIDE, A. C. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de Jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.ex Hayne) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p.144-152, 2000.

BOTELHO, S. A. **Características de frutos, sementes e mudas jatobá-do-cerrado, *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne de diferentes procedências**. 1993. 93 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal do Setor de Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

- BRAGA, R. S.; FONTES, N. B.; CHAVES, L. J.; DUTRA, N. C. L.; TELLES, M. P. C. Transferability of new microsatellite markers for *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA**, 60, 2014, Guarujá-SP.
- BROHEDE, J.; ELLEGREN, H. Microsatellite evolution: polarity of substitutions within repeats and neutrality of flanking sequences. **Proc. R.Soc. Lond.B.**, v. 266, p. 825-833, 1999.
- BRUNEAU, A.; FOREST, F. Phylogenetic Relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as Inferred from Chloroplast *trnL* Intron Sequences. **Systematic Botany**, v. 26, n. 3, p. 487-514, 2001.
- BRUNEAU, A.; FOREST, F.; HERENDEEN, P.S.; KLITGAARD, B. B.; LEWIS, G. P. Phylogenetic Relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as Inferred from Chloroplast *trnL* Intron Sequences. **Systematic Botany**, v. 26, n. 3, p. 487-514, 2001.
- BRUNEAU, A.; MERCURE, M.; LEWIS, G. P.; HERENDEEN, P. S. Phylogenetic patterns and diversification in the caesalpinoid legumes. **Botany**, v. 86, p. 697-718, 2008.
- BURKART, A. Leguminosas-Mimosoideas. In: REITZ, P. R (Ed.). **Flora ilustrada Catarinense**. Ijaraí, Santa Catarina, Brasil, 1979, cap.1, p. 1-4.
- BULHÃO, C. F.; FIGUEIREDO, P. S. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.3, p.361-369, 2002.
- BUONAMICI, A.; CAVERS, S.; VENDRAMIN, G. G.; Microsatellite loci isolated from the tropical tree *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae). **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 5, p. 1020-1022, 2008.
- BUSCHIAZZO, E; GEMMELL, N. J. The rise, fall and renaissance of microsatellites in eukaryotic genomes. **BioEssays**, v.28, p.1040–1050, 2006.
- CABALLERO, A. RODRÍGUES-RAMILO, S. T.; ÁVILA, V.; FERNÁNDEZ, J. Management of genetic diversity of subdivided populations in conservation programmes. **Conservation Genetics**, v. 11, n. 2, p. 409-419, 2010.
- CARVALHO, P. E. R. **Jatobá-do-cerrado – *Hymenaea stigonocarpa***. Embrapa Florestas, 2007, 8p.
- CARVALHO, R. D.; PAREJA, E. K. Germinação de duas espécies do Cerrado, *Pterodon emarginatus* (sucupira) e *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá) e uma derivada da América do Sul, *Jatropha curcas* (pinhão-mansão), coletadas na região de Pium–TO. **Revista Carbono Social**, v. 1, n. 4, p. 72-74, 2007.
- CAVALLARI, M. M.; GIMENES, M. A.; BILLOT, C.; TORRES, R. B.; ZUCCHI, M. I.; CAVALHEIRO, A. J.; BOUVET, J. M. Population genetic relationships between *Casearia sylvestris* (Salicaceae) varieties occurring sympatrically and allopatrically in different ecosystems in south-east Brazil. **Annals of Botany**, v. 106, n. 4, p. 627-636, 2010.

CAVALLI-SFORZA, L. L., P. MENOZZI, A. PIAZZA. **The History and Geography of Human Genes**. Princeton University Press, Princeton, 1994, 1059p.

CHANG, Y. K.; SILVA, M. R.; GUTKOSKI, L. C.; SEBIO, L.; DA-SILVA, M. A. A. P. Development of Extruded Snacks Using Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart) Flour and Cassava Starch Blends. **J. Sci. Food Agric.**, v. 78, p. 59-66, 1998.

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

CLEMENTO, A. J.; ANDERSON, E. C.; BOUGHTON, D.; GIRMAN, D.; GARZA, J. C. Population genetic structure and ancestry of *Oncorhynchus mykiss* populations above and below dams in south-central California. **Conservation Genetics**, v. 10, n. 5, p. 1321-1336, 2009.

COELHO, A. S. G. **BOOD: avaliação de dendrogramas baseados em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap (software)**. Goiânia: Laboratório de Genética Vegetal, ICB-UFG, 2000.

COLE, M. M. **The Savanas: Biogeography and Geobotany**. London: Academic Press Inc., 1986. 438 p.

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. **Molecular Ecology**, v. 10, n. 2, p. 349-356, 2001.

COLLEVATTI, R. G.; LIMA, J. S.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C. Spatial Genetic Structure and Life History Traits in Cerrado Tree Species: Inferences for Conservation. **Natureza & Conservação**, v. 8, n. 1, p. 54-59, 2010.

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 savanas. **Heredity**, v. 111, p. 97-105, 2013.

COSTA, I. R.; ARAÚJO, F. S.; LIMA-VERDE, E. W. Flora e aspectos auto-ecológicos de um enclave de cerrado na chapada do Araripe, Nordeste do Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 18, n. 4, p. 759-770, 2004.

COTTRELL, J. E.; MUNRO, R. C.; TABBENER, H. E.; MILNER, A. D.; FORREST, G. I.; LOWE, A. J. Comparison of fine-scale genetic structure using nuclear microsatellites within two British oakwoods differing in population history. **Forest Ecology and Management**, v. 176, p. 287-303, 2003.

COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta Bot. Bras.**, v. 20, n. 1, p. 13-23, 2006.

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

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

DEFAVARI, G. R.; TARAZI, R.; MORENO, M. A.; FERRAZ, E. M.; GANDARA, F. B.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial intrapopulacional de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne na Estação Ecológica de Itirapina, SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 81, p. 089-098, 2009.

DINIZ-FILHO, J.A.F., TELLES, M.P.C. Spatial autocorrelation analysis and the identification of operational units for conservation in continuous populations. **Conservation Biology**, v. 16, p. 924-93, 2002.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M.; BASTOS, R. P.; VIEIRA, C. M.; VIEIRA, L. C. G. Priority Areas for Anuran Conservation using Biogeographical Data: a Comparison of Greedy, Rarity, and Simulated Annealing Algorithms to Define Reserve Networks in Cerrado. **Braz. J. Biol.**, v. 65, n. 2, p. 251-261, 2005.

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.; 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.; BINI, L. M. Thirty-five years of spatial autocorrelation analysis in population genetics: an essay in honour of Robert Sokal (1926–2012). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 107, p. 721–736, 2012.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; MELO, D. B.; OLIVEIRA, G. COLLEVATTI, R. G.; SOARES, T. N.; NABOUT, J. C.; LIMA, J. S.; DOBROVOLSKI, R.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; LOYOLA, R. D.; TELLES, M. P. C. Planning for optimal conservation of geographical genetic variability within species. **Conservation Genetics**, v. 13, p. 1085–1093, 2012.

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.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C. Pattern-oriented modelling of population genetic structure. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 113, p. 1152–1161, 2014.

DÖBEREINER, J. Nodulação e fixação de nitrogênio em leguminosas florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, p. 83-90, 1984.

DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; CRUZ-CAÑIZARES, J.; OSETE-CORTINA, L.; DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DAVID, H. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatobá resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 284, p. 81–92, 2009.

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.

DOYLE, J.J.; LUCKOW, M. A. 2003. The Rest of the Iceberg. Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context. **Plant Physiol.**, v. 131, p. 900-910, 2003.

DRAY, S. Analysis of Ecological Data : Exploratory and Euclidean Methods in Environmental Sciences. **Package ‘ade4’ (Version 1.7-2)**, 2015.

DRUMMOND, C. S.; HAMILTON, M. B. Hierarchical components of genetic variation at a species boundary: population structure in two sympatric varieties of *Lupinus microcarpus*. (Leguminosae). **Molecular Ecology**, v. 16, p. 753–769, 2007.

EITEN, G. The Cerrado Vegetation of Brazil. **Botanical Review**, v. 38, n. 2, p. 275-283, 1972.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequence with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, p. 435-445, 2004.

EPPERSON, B. K. **Geographical genetics**. United Kingdom, Princeton University Press, 2003, 372 p.

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.; 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.

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.

FARIA, S. M.; LIMA, H.C. Additional studies of the nodulation status of legume species in Brazil. **Plant and Soil**, v. 200, p. 185-192, 1998.

FARIA, J. P.; SANO, S. M.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Jatobá-do-Cerrado. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M (Ed.). **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006, cap 11, p. 174-186.

FARIA, T. M.; SCABORA, M. H.; MALTONI, K. L.; CASSIOLATO, A. M. R. Micorrização e crescimento de progênes de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex. Hayne em subsolo de área degradada. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 1, p. 233-243, 2013.

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

FILARDI, F. L. R.; GARCIA, F. C. P.; OKANO, R. M. C. Caesalpinioideae (Leguminosae) lenhosas na estação ambiental de Volta Grande, Minas Gerais, Brasil. **Revista Árvore**, v.33, n.6, p.1071-1084, 2009.

FORNI-MARTINS, E. R.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; CRUZ, N. D. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, n. 2, p. 281-288, 1995.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CANHOS, D. A. L.; CARVALHO-JÚNIOR, A. A.; COELHO, M. A. N.; COSTA, A. F.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M. G.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; LUGHADHA, E. N.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, S.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J. R.; SYLVESTRE, L. S.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. C. New Brazilian Floristic List Highlights Conservation Challenges. **BioScience**, v. 62, n. 1, p. 39-45, 2012.

FOUGÉRE-DANEZAN, M.; MAUMONT, S.; BRUNEAU, A. Relationships Among Resin-Producing Detarieae s.l. (Leguminosae) as Inferred by Molecular Data. **Systematic Botany**, v. 32, n. 4, p. 748–761, 2007.

FOUGÉRE-DANEZAN, M.; HERENDEEN, P. S.; MAUMONT, S.; BRUNEAU, A. Morphological evolution in the variable resin-producing Detarieae (Fabaceae): do morphological characters retain a phylogenetic signal? **Annals of Botany**, v. 105, p. 311 - 325, 2010.

FRANÇOIS, O.; CURRAT, M.; RAY, N.; HAN, E.; EXCOFFIER, L.; NOVEMBRE, J. Principal Component Analysis under Population Genetic Models of Range Expansion and Admixture. **Molecular Biology Evolution**, v. 27, n. 6, p.1257–1268, 2010.

FREELAND, J. R. **Molecular Ecology**. England, Jhon Wiley & Sons, 2005, 402p.

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

GIBBS, P. E.; OLIVEIRA, P. E.; BIANCHI, M. B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian Cerrados. **Int. J. Plant Sci.**, v. 160, n. 1, p. 72–78, 1999.

GOMES, C. C.; MOURA, T. M. Estrutura genética em populações de plantas do Cerrado. **Revista Agrotecnologia**, v. 1, n. 1, p. 33-52, 2010.

GOSLEE, S.; URBAN, D. Dissimilarity-based functions for ecological analysis. **Package 'ecodist' (Version 1.2.9)**, 2013.

GOUDET, J. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 6, p. 485, 1995.

GOUDET, J. Hierfstat, a package for R to compute and test variance components and F-statistics. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, p. 184-186, 2005.

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. **Plant Physiol.**, v. 131, p. 872-877, 2003.

GUARIM-NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Bot. Bras.**, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

GUICHOUX, E.; LAGACHE, L.; WAGNER, S.; CHAUMEIL, P.; LÉGER, P.; LEPAIS, O.; LEPOITTEVIN, C.; MALAUSA, T.; REVARDEL, T. E.; SALIN, F.; PETIT, R. J. Current trends in microsatellite genotyping. **Molecular Ecology Resources**, v.11, p. 591-611, 2011.

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

GURGEL, E. S. C.; SANTOS, J. U. M.; LUCAS, F. C. A.; BASTOS, M. N. C. Morfologia de plântulas de Leguminosae e o potencial sistemático Leguminosae. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 065-073, 2012.

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.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Princípios de Genética De Populações**. 4.ed., Editora Artmeds., 2010, 542 p.

HERMUCHE, P. M. **Modelagem da Paisagem da Floresta Estacional Decidual no Vão do Paranã, Goiás**. 2010. 137f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

HOLDEREGGER, R.; BUEHLER, D.; GUGERLI, F.; MANEL, S. Landscape genetics of plants. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 12, 675-683, 2010.

HOLSINGER, K. E.; WEIR, B. S. Genetics in geographically structured populations: defining , estimating and interpreting FST. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, p. 639-650, 2009.

HOTTELING, H. Analysis of a complex of statistical variables into principal componentes. **Journal of Educational Psychology**, v. 24, p. 417-441, 1933.

HUSSON, F.; JOSSE, J.; LE, S.; MAZET, J. Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining. **Package ‘FactoMineR’ (Version 1.31.3)**, 2015.

IGLESIAS, J. O. V.; JUNQUEIRA, D. I.; RANDO, J. G.; MOURA, T. M. Listagem das Leguminosae - Caesalpinioideae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás, Brasil. **R. Bras. Bioci.**, v. 9, n. 4, p. 421-427, 2011.

ISHARA, K. L.; MAIMONI-RODELLA, R. C. S. Richness and similarity of the Richness and similarity of the Cerrado vascular flora in the central west region of São Paulo state, Brazil. **Check List**, v. 8, n. 1, p. 032-042, 2012.

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

JOMBART, T.; COLLINS, C.; KAMVAR, Z. N.; LUSTRIK, R.; SOLYMOS, P.; AHMED, I.; CALBOLI, F.; CORI, A.; SCHLIEP, K. Exploratory Analysis of Genetic and Genomic Data. **Package ‘adegenet’ (Version 2.0.0)**, 2015.

KAI, K. C.; PETKOWICZ, C. L. O. Influence of extraction conditions on properties of seed xyloglucan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, p. 223-228, 2010.

KÄSS, E.; WINK, M. Molecular Evolution of the Leguminosae: Phylogeny of the Three Subfamilies Based on *rbcL*-sequences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 5, p. 365-378, 1996.

KÄSS, E.; WINK, M. Phylogenetic Relationships in the Papilionoideae (Family Leguminosae) Based on Nucleotide Sequences of cpDNA (*rbcL*) and ncDNA (ITS 1 and 2). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 8, n. 1, p. 65-88, 1997.

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

KLITGAARD, B. B.; BRUNEAU, A. Advances in Legume Systematics. Part 10. Higher Level Systematics. **Systematic Biology**, v. 54, n. 3, p. 510-511, 2005.

KODAMA, M. T.; SARTORI, A. L. B. Caracterização morfológica de plântulas de *Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart. ex Hayne, *H. stigonocarpa* Hayne var. *brevipetiolata* N. Mattos e *H. courbaril* L. **Revista Bras. de Bioci.**, v. 5, supl. 1, p. 663-665, 2007.

LACERDA, A. E. B.; KANASHIRO, M.; SEBBENN, A. M. Long-pollen Movement and Deviation of Random Mating in a Low-density Continuous Population of a Tropical Tree *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, v. 40, n. 4, p. 462-470 2008.

LANGENHEIM, J. H. Amber: A Botanical Inquiry. **Science**, v. 163, p. 1157-1168, 1969.

LANGENHEIM J. H.; LEE, Y.T; MARTIN, S.S. An evolutionary and ecological perspective of Amazonia Hylaea species of *Hymenaea* (Leguminosae: Caesalpinioideae). **Acta Amazonica**, v. 3, p. 5-38, 1973.

LANGENHEIM, J. H.; LEE, Y. Reinstatement of the genus *Hymenaea* (Leguminosae: Caesalpinioideae) in Africa. **Brittonia**, New York, v. 26, p. 3-21, 1974.

LANGENHEIM, J. H.; STUBBLEBINE, W. H.; LINCOLN, D. E.; FOSTER, C. E. Implications of Variation in Resin Composition among Organs, Tissues and Populations in the Tropical Legume *Hymenaea*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 6, p. 299-313, 1978.

LANGENHEIM, J. H.; ARRHENIUS, S. P.; NASCIMENTO, J. C. Relationship of Light Intensity to Leaf Resin Composition and Yield in the Tropical Leguminous Genera *Hymenaea* and *Copaifera*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 9, n. 1, p. 27-37, 1981.

LANGENHEIM, J. H.; LINCOLN, D. E.; STUBBLEBINE, W. H.; GABRIELLI, A. C. Evolutionary implications of leaf resin pocket patterns in the tropical tree *Hymenaea* (Caesalpinioideae: Leguminosae). **Amer. J. Bot.**, v. 69, n. 4, p. 595-607, 1982.

LANGENHEIM, J. H.; HALL, G. D. Sesquiterpene Deterrence of a Leaf-Tying Lepidopteran, *Stenoma ferrocaneola*, on *Hymenaea stigonocarpa* in Central Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 11, n. 1, p. 29-36, 1983.

LANGENHEIM, J. H. The Roles of Plant Secondary Chemicals in Wet Tropical Ecosystems. **Physiological ecology of plants of the wet tropics Tasks for vegetation Science**, v. 12, p. 189-208, 1984.

LEE, Y. T.; LANGENHEIM, J. H. **Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae)**. Los Angeles: University of California Press Berkeley, v. 69, 1975, 109 p.

LEGENDRE, P.; FORTIN, M. J. Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 831-844, 2010.

LEWIS, P.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis**: computer programme for the analyses of allelic data - version 1.1, 2002. Disponível em: <<http://http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/>>. Acesso em: 06 de fev. 2014.

LEWIS, G.; SCHIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. The Royal Botanical Garden, Kew, 2005. 577p.

LICHSTEIN, J. W. Multiple regression on distance matrices: a multivariate spatial analysis tool. **Plant Ecology**, v. 188, p. 117-131, 2007.

- LIMA, H.C.; PINTO, R.B. *Hymenaea* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB83206>>. Acesso em: 18 Jul. 2014.
- LIMA, J. S.; COLLEVATTI, R. G.; SOARES, T. N.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C. Fine-scale genetic structure in *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endemic and habitat-restricted species from Central Brazil. **Plant Systematic and Evolution**, v. 301, p. 1207–1213, 2015.
- LOCOSSELLI, G. M.; BUCKERIDGE, M. S.; MOREIRA, M. Z.; CECCANTINI, G. A multi-proxy dendroecological analysis of two tropical species (*Hymenaea* spp., Leguminosae) growing in a vegetation mosaic. **Trees**, v. 27, p. 25-36, 2013.
- MACHADO, R.B.; RAMOS-NETO, M.B.; PEREIRA, P.G.P.; CALDAS, E.F.; GONÇALVES, D.A.; SANTOS, N.S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004, p. 23.
- 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.
- MANLY, B. F. J. Randomization and Regression Methods for Testing for Associations with Geographical, Environmental and Biological Distances between Populations. **Res. Popul. Ecol.**, v. 28, p. 201-218, 1986.
- MANTEL, N. Detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, v. 27, n. 2P1, p. 209-220, 1967.
- MARANHÃO, C. A.; PINHEIRO, I. O.; SANTANA, A. L. B. D.; OLIVEIRA, L. S.; NASCIMENTO, M. S.; BIEBER, L. W. Antitermitic and antioxidant activities of heartwood extracts and main flavonoids of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 79, p. 9-13, 2013.
- MARTIN, S. S.; LANGENHEIM, J. H. Quantitative Variation in Leaf Pocket Resin Composition in *Hymenaea*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 4, p. 181-191, 1976.
- MATUDA, T. G. ; MARIA-NETTO, F. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (Mart.) *Hymenaea stigonocarpa*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 2, p. 353-357, 2005.
- MAYR, E. **Systematics and the Origin of Species**. Columbia University Press, New York. 1942.
- MEIRMANS, P. AMOVA-Based Clustering of Population Genetic Data. **Journal of Heredity**, v. 15, p. 1-7, 2012.

MELANDRI, J. L.; PERNÍIA, N. E. Wood anatomy of tribe Detarieae and comparison with tribe Caesalpinieae (Leguminosae, Caesalpinioideae) in Venezuela. **Rev. Biol. Trop.**, v. 57, n.1-2, p. 303-319, 2009.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA-JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; SILVA, P. E. N.; 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.418-1279.

MEWS, H. A.; PINTO, J. R. R.; PEDRO V. EISENLOHR, P. V.; LENZA, E. Does size matter? Conservation implications of differing woody population sizes with equivalent occurrence and diversity of species for threatened savanna habitats. **Biodivers. Conserv.**, v. 23, p. 1119–1131, 2014.

MICHALAKIS, Y.; EXCOFFIER, L. A Generic Estimation of Population Subdivision Using Distances Between Alleles With Special Reference for Microsatellite Loci. **Genetics**, v. 142, p. 1061-1064, 1996.

MINDER, A. M.; WIDMER, A. A population genomic analysis of species boundaries: neutral processes, adaptive divergence and introgression between two hybridizing plant species. **Molecular Ecology**, v.17, p. 1552–1563, 2008.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Cerrado**. 2014. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 12 jul. 2014.

MITTON, J. B. Molecular Approaches to Population Biology. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, v. 25, p. 45-69, 1994.

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

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. **Scientia Forestalis**, n. 74, p. 75-86, 2007.

MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Pollen Dispersal Between Isolated Trees in the Brazilian Savannah: A Case Study of the Neotropical Tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, v. 43, n. 2, p. 192–199, 2011

MORENO, M. A. **Estrutura genética e diversidade clonal de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) em duas populações no Cerrado do Estado de São Paulo**. 2009. 115 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais: Conservação de Ecossistemas Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MORENO, M. A.; TARAIZI, R.; FERRAZ, E. M.; GANDARA, F. B. KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial em populações de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne

mediante a utilização de marcadores microssatélites cloroplastidiais. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 84, p. 513-523, 2009.

MOURA, T. M.; MARTINS, K.; SUJII, P. S.; SEBBENN, A. M.; CHAVES, L. J. Genetic structure in fragmented populations of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. with distinct anthropogenic histories in a Cerrado region of Brazil. **Genetics & Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 2674-2682, 2012.

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

NAGYLAKI, T. Fixation Indices in Subdivided Populations. **Genetics**, v. 148, p. 1325-1332, 1998.

NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, v. 106, n. 949, p. 283-292, 1972.

NEI, M. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

NEIGEL, J. E. Is F_{ST} obsolete? **Conservation Genetics**, v. 3, p. 167–173, 2002.

NERI, A. V.; CAMPOS, E. P.; DUARTE, T. G.; MEIRA-NETO, J. A. A.; SILVA, A. F.; VALENTE, E. E. Regeneração de espécies nativas lenhosas sob plantio de *Eucalyptus* em área de Cerrado na Floresta Nacional de Paraopeba, MG, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 19, n. 2, p. 369-376, 2005.

NERI, A. V.; SOARES, M. P.; MEIRA-NETO, J. A. A.; DIAS, L. E. Espécies de cerrado com potencial para recuperação de áreas degradadas por mineração de ouro, Paracatu-MG. **Revista Árvore**, v.35, n.4, p.907-918, 2011.

NERI, A. V.; SCHAEFER, C.E.G.R.; SILVA, A.F.; SOUZA, A.L.; FERREIRA-JUNIOR, W. G.; MEIRA-NETO, J.A.A. The influence of soils on the floristic composition and community structure of an area of Brazilian Cerrado vegetation. **Edinburgh Journal of Botany**, v.69, n. 1, p. 1–27, 2012.

NISSENBAUM, A.; YAKIR, D.; LANGENHEIM, J. H. Bulk carbon, oxygen, and hydrogen stable isotope composition of recent resins from amber-producing *Hymenaea*. **Naturwissenschaften**, v. 92, p. 26-29, 2005.

NOVEMBRE, J.; STEPHENS, M. Interpreting principal component analyses of spatial population genetic variation. **Nature Genetics**, v. 40, n. 5, p. 646-649, 2008.

NYCHKA, D. Tools for Spatial Data. **Package ‘fields’ (Version 8.2-1)**, 2015.

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

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCovsky, R.; VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

ORSI, P. R.; BONAMIN, F.; SEVERI, J. A.; SANTOS, R. C.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; STASI, L. C. D. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 81-90, 2012.

ORSI, P. R.; SEITO, L. N.; STASI, L. C. D. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, p. 380-385, 2014.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, H. H. M.; WAGNER, H. Community Ecology Package. **Package 'vegan' (Version 2.3-0)**, 2015.

PAETKAU, D.; CALVERT, W.; STIRLING, I.; STROBECK, C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Molecular Ecology**, v. 4, n. 3, p. 347-354, 1995.

PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. R. Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) colleters. **Rev. Biol. Trop.**, v. 54, n. 3, p. 943-950, 2006.

PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. R. The Floral Nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): Structural Aspects During Floral Development. **Annals of Botany**, v. 101, p. 125-133, 2008.

PARADIS, E.; BLOMBERG, S.; BOLKER, B.; CLAUDE, J.; CUONG, H. S.; DESPER, R.; DIDIER, G.; DURAND, B.; DUTHEIL, J.; GASCUEL, O.; HEIBL, C.; IVES, A.; LAWSON, D.; LEFORT, V.; LEGENDRE, P.; LEMON, J.; MCCLOSKEY, R.; NYLANDER, J.; OPGEN-RHEIN, R.; POPESCU, A. A.; ROYER-CARENZI, M.; SCHLIEP, K.; STRIMMER, K.; VIENNE, D. Analyses of Phylogenetics and Evolution. **Package 'ape' (Version 3.3)**, 2015.

PEREIRA, S. R.; GISSELI RAMALHO GIRALDELLI, G. R.; LAURA, V. A.; SOUZA, A. L. T. Tamanho de frutos e de sementes e sua influência na germinação de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart. ex Hayne, leguminosae – caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 1 p. 141-148, 2011.

PEREIRA, Z. V.; FERNANDES, S. S. L.; SANGALLI, A.; MUSSURY, R. M. Usos múltiplos de espécies nativas do bioma Cerrado no Assentamento Lagoa Grande, Dourados, Mato Grosso do Sul. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 126-136, 2012.

PESTANA, L. T. C. **Estudo taxonômico de *Hymenaea* L.: complexo *H. courbaril*, *H. martiana* e *H. stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae: Detarieae)**. 2010. 45 f. Dissertação. (Mestrado em Biologia Vegetal) – Departamento de Biologia do Centro de

Ciências Biológicas e da Saúde, Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso do Sul, 2010.

PINTO, J. R. R.; LENZA, E.; PINTO, A. S. Composição florística e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea em um cerrado rupestre, Cocalzinho de Goiás, Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.1, p.1-10, 2009.

PRADO, P. I.; LEWINSOHN, T. M.; DO CARMO, R. L.; HOGAN, D. J. Ordenação Multivariada na Ecologia e seu Uso em Ciências Ambientais. **Ambiente & Sociedade**, v. 5, n. 10, p. 1-15, 2002.

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

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2009. 467 p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. ISBN 3-900051-07-0, Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 09 mar. 2015.

RAMOS, K. M. O.; FELFILI, J. M.; SOUSA-SILVA, J. C.; FAGG, C. W.; FRANCO, A. C. Desenvolvimento Inicial de plântulas de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex. Hayne, sob diferentes condições de sombreamento. **Brasil Florestal**, v. 23, n. 77, p. 37-42, 2003.

RAMOS, A. C. S.; LEMOS-FILHO, J. P.; RIBEIRO, R. A.; SANTOS, F. R.; LOVATO, M. B. Phylogeography of the Tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the Influence of Quaternary Climate Changes in the Brazilian Cerrado. **Annals of Botany**, v. 100, p. 1219–1228, 2007.

RAMOS, A. C. S.; DELEMOS-FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. Phylogeographical Structure of the Neotropical Forest Tree *Hymenaea courbaril* (Leguminosae: Caesalpinioideae) and Its Relationship with the Vicariant *Hymenaea stigonocarpa* from Cerrado. **Journal of Heredity**, v. 100, n. 2, p. 206–216, 2009.

RANDO, J. G.; HERVENCIO, P.; SOUZA, V. C.; GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Leguminosae – “Caesalpinioideae”. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, v. 31, n. 2, p. 141-198, 2013.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, n. 3, p. 223-230, 1997.

REDDEN, K. M.; HERENDEEN, P. S.; WURDACK, K. J.; BRUNEAU, A. Phylogenetic Relationships of the Northeastern South American Brownea Clade of Tribe Detarieae (Leguminosae: Caesalpinioideae) Based on Morphology and Molecular Data. **Systematic Botany**, v. 35, n. 3, p. 524–533, 2010.

RODRIGUES, E. B; ALMEIDA JÚNIOR, E. B; COLLEVATTI, R. G; CHAVES, L. J; TELLES, M. P. C. Genetic differentiation among *Hancornia speciosa* Gomez

(Apocynaceae) varieties: the savanna tree species. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA**, 60., 2015, Águas de Lindóia.

RONDON-NETO, R. M.; SANTOS, J. S.; SILVA, M. A.; KOPPE, V. C. Potencialidades de uso de espécies arbustivas e arbóreas em diferentes fisionomias de cerrado, em Lucas do Rio Verde/MT. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 10, n. 2, p. 113-126, 2010.

ROOSEVELT, A. C.; COSTA, M. L.; MACHADO, C. L.; MICHAEL, M.; MERCIER, N.; VALLADAS, H.; FEATHERS, J.; BARNETT, W.; SILVEIRA, M. I.; HENDERSON, A.; SILVA, J.; CHERNOFF, B.; REESE, D. S.; HOLMAN, J. A.; TOTH, N.; SCHICK, K. Paleoindian Cave Dwellers in the Amazon: The Peopling of the Americas. **Science**, v. 272, p. 373-384, 1996.

ROSENBERG, N. A. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, p. 137–138, 2004.

SANO, S. M.; FONSECA, C. E. L. **Estabelecimento de progênies de jatobá (*Hymenaea spp*) em plantio puro no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados: Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 2003. 14 p.

SARAÇLI, S.; DOĞAN, N.; DOĞAN, I. Comparison of hierarchical cluster analysis methods by cophenetic correlation. **Journal of Inequalities and Applications**, v. 203, p. 1-8, 2013.

SCHLÖTTERER, C. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 1, p. 63-69, 2004.

SCHLOTTFELDT, S.; WALTER, M. E. M. T.; CARVALHO, A. C. P. L. F.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C.; LOYOLA, R. D.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Multi-objective optimization for plant germplasm collection conservation of genetic resources based on molecular variability. **Tree Genetics & Genomes**, v. 11, p. 16, 2015.

SILVA, J. M. C. Endemic bird species and conservation in the Cerrado Region, South America. **Biodiversity and Conservation**, v. 6, p.435-450, 1997.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P.; CHANG, Y. K. Uso de farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) em biscoitos tipo “cookie”. **Alim. Nutr.**, v. 10, p. 7-22, 1999.

SILVA, M. R.; SILVA, M. S.; MARTINS, K. A.; BORGES, S. Utilização tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 2, p. 176-182, 2001.

SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, Å.; NDJIONDJOP, M. N. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 25, p. 2540-2568, 2006.

SLATKIN, M. A Measure of Population Subdivision Based on Microsatellite Allele Frequencies. **Genetics**, v. 139, p. 457-462, 1995.

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

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

SOKAL, R. R. Testing statistical significance of geographic variation patterns. **Syst. Zool.**, v. 28, p. 227 -231, 1979.

SOKAL, R. R.; JACQUEZ, G. M. Testing Inferences about Microevolutionary Processes by Means of Spatial Autocorrelation Analysis. **Evolution**, v. 45, n. 1, p. 152-168, 1991.

SOKAL, R. R.; ODEN, N. L. Spatial Autocorrelation Analysis as an Inferential Tool in Population Genetics. **The American Naturalist**, v. 138, n. 2 p. 518-521, 1991.

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.

SMOUSE, P. E.; LONG, J. C.; SOKAL, R. R. Multiple Regression and Correlation Extensions of the Mantel Test of Matrix Correspondence. **Syst. Zool.**, v. 35, n. 4, p. 627-632, 1986.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Tree**, v. 15, n. 5, p. 199-203, 2000.

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

TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J. Autocorrelação espacial das frequências alélicas em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC., Myrtaceae) no sudeste de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.2, p.145-154, 2001.

TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; VALVA, F. D. Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. (“cagaiteira” – Myrtaceae) in Central Brazil: Spatial analysis and implications for conservation and management. **Conservation Genetics**, v. 4, p. 685–695, 2003.

TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Multiple Mantel tests and isolation-by-distance, taking into account long-term historical divergence. **Genetics and Molecular Research**, v. 4, n. 4, p. 742-748, 2005.

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.

THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T. O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene Biosynthesis in Plants. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 65, p. 225-57, 2014.

TORGERSON, W. S. **Theory and methods of scaling**. John Wiley, New York, New York, USA, 1958.

TUCKER, S. C. Floral Development in Legumes. **Plant Physiol.**, v. 131, p. 911-926, 2003.

TUNHOLI, V. P.; RAMOS, M. A.; SCARIOT, A. Availability and use of woody plants in an agrarian reform settlement in the cerrado of the state of Goiás, Brazil. **Acta Bot. Bras.**, v. 27, n.3, p. 604-612, 2013.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; CRUZ, F.; VENDRAMIN, G. G.; SIMON, M. F.; SALGUEIRO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R. Large-scale phylogeography of the disjunct Neotropical tree species *Schizolobium parahyba* (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 65, p. 174–182, 2012.

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.

WANG, T. L.; DOMONEY, C.; HEDLEY, C. L.; CASEY, R.; GRUSAK, M. A. Can We Improve the Nutritional Quality of Legume Seeds? **Plant Physiol.**, v. 131, p. 886–891, 2003.

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

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

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

WERNECK, F. P. The diversification of eastern South American open vegetation biomes: Historical biogeography and perspectives. **Quaternary Science Reviews**, v. 30, p. 1630-1648, 2011.

WERNECK, F. P.; NOGUEIRA, C.; COLLI, G. R.; SITES JUNIOR, 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**, v. 39, n. 9, p. 1695-1706, 2012.

WINK, M.; MOHAMED, G.I.A. Leguminosae: mapping of distribution patterns of secondary metabolites on a molecular phylogeny inferred from nucleotide sequences of the *rbcL* gene. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, p. 897-917, 2003.

WOJCIECHOWSKI, M. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. In: KLITGAARD, B. B.; BRUNEAU, A. (Ed.). **Advances in Legume Systematics. Part 10. Higher Level Systematics**. Royal Botanic Gardens, Kew, 2003, p. 5-35.

WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M.; SANDERSON, M. J. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *Matk* gene resolves many well-supported subclades within the family. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 11, p. 1846–1862, 2004.

WOMBLE, W. Differential systematics. **Science**, v. 28, p. 315–322, 1951.

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, v. 28, p. 114-138, 1943.

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

WU, C. I. The genic view of the process of speciation. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 14, p. 851–865, 2001.

ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; AGUIAR, A. V.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; VENCOSKY, R. Padrão Espacial de Divergência em Populações de *Eugenia dysenterica* DC utilizando Marcadores Microssatélites. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n.1, p. 29-38, 2004.

APÊNDICE I

Apêndice I - Frequência alélica dos nove locos microssatélites analisados nos 1034 indivíduos de *H. stigonocarpa*.

Loco: Hc14	115	117	119	121	123	125	127	129	131	133	135	139												
Frequência	0	0.066	0.665	0.069	0.036	0.001	0.011	0.075	0.065	0.008	0.002	0.002												
Loco: Hc17	105	107	109	111	113	115	117	119	121	123	125	127	129	131	133	139	145	147	151					
Frequência	0.006	0.019	0.347	0.056	0.195	0.072	0.097	0.082	0.034	0.007	0	0.015	0.027	0.026	0.008	0	0.002	0.003	0.003					
Loco: Hc33	108	110	112	114																				
Frequência	0.862	0.005	0.131	0.002																				
Loco: Hc40	157	159	161	163	165	167	169	171	173	175	177	179	181	183	185	187	189	191	193	195	197	199	201	
Frequência	0.008	0.012	0.133	0.043	0.035	0.083	0.235	0.036	0.014	0.053	0.094	0.04	0.039	0.028	0.018	0.02	0.03	0.012	0.015	0.011	0.015	0.011	0.007	
Loco: Hc40	203	205	207	221	229																			
Frequência	0.001	0.004	0.001	0	0																			
Loco: Hc42	107	109	111	113	117	119	121	123	125	127	129	131	133	135	137	139	141	143	145	147	149	151	153	
Frequência	0.026	0.01	0.425	0.005	0	0.003	0.01	0.029	0.055	0.242	0.018	0.025	0.016	0.008	0.008	0.009	0.011	0.005	0.018	0.023	0.015	0.011	0.001	
Loco: Hc42	155	157	159	161	163	165	167	173	175	183	185													
Frequência	0	0.002	0.006	0.002	0.002	0.002	0.002	0	0	0.001	0.001													
Loco: Hym01	110	112	114	116	118	120	122	124	126	128	130	132	134	136	138	140	142	146	148					
Frequência	0.04	0.026	0.165	0.22	0.057	0.157	0.084	0.067	0.047	0.033	0.038	0.026	0.015	0.003	0.009	0.002	0.008	0.002	0.001					
Loco: Hym02	169	171	175	177	179	181	183	195	197	207														
Frequência	0.008	0.002	0.028	0.001	0.875	0.025	0.038	0.019	0.003	0.001														
Loco: Hym05	133	139	141	143	145	147	149	151	153	155	157	159	161	163	165	167	169	171	173	175	177	179	181	
Frequência	0.003	0.004	0.005	0.017	0.048	0.013	0.027	0.01	0.004	0.004	0.02	0.052	0.105	0.069	0.04	0.028	0.041	0.05	0.158	0.072	0.072	0.065	0.034	

																	Continuação								
Loco: Hym 05	183	185	187	189	191	193	195	197	199	201	203	205	207	209	215	219									
Frequência	0.013	0.012	0.009	0.006	0.001	0.003	0	0.001	0.002	0	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002								
Loco: Hym 06	162	164	166	168	170	172	174	176	178	180	182	184	186	188	190	192	194	196	198	200	202	204	206		
Frequência	0.012	0.018	0.001	0.013	0.001	0.178	0.455	0.176	0.042	0.011	0.017	0.016	0.011	0.007	0.002	0	0.015	0.006	0.006	0.002	0.005	0	0.003		
Loco: Hym 06	208																								
Frequência	0																								

APÊNDICE II

Apêndice II – F_{ST} par a par obtidos entre todas as subpopulações, considerando variedade pelo programa ARLEQUIN.

	P_BJAGO	L_BJAGO	P_SELMS	L_SELMS	PC_AGCMS	L_AGCMS	L_BANMS	L_SONMS	P_PIRGO	L_PIRGO	PC_GCAMT	L_GCAMT	PC_PRLMT	P_JUSGO	L_JUSGO
P_BJAGO	0.000														
L_BJAGO	0.060	0.000													
P_SELMS	0.162	0.108	0.000												
L_SELMS	0.291	0.235	0.094	0.000											
PC_AGCMS	0.226	0.175	0.029	0.096	0.000										
L_AGCMS	0.203	0.171	0.047	0.150	0.041	0.000									
L_BANMS	0.151	0.119	0.068	0.196	0.115	0.091	0.000								
L_SONMS	0.152	0.121	0.095	0.245	0.176	0.125	0.042	0.000							
P_PIRGO	0.180	0.171	0.116	0.237	0.122	0.076	0.086	0.111	0.000						
L_PIRGO	0.137	0.109	0.102	0.218	0.119	0.091	0.082	0.107	0.008	0.000					
PC_GCAMT	0.291	0.224	0.125	0.134	0.122	0.154	0.208	0.256	0.244	0.216	0.000				
L_GCAMT	0.098	0.067	0.097	0.203	0.148	0.139	0.079	0.112	0.146	0.093	0.177	0.000			
PC_PRLMT	0.407	0.353	0.193	0.204	0.205	0.213	0.310	0.358	0.353	0.351	0.157	0.296	0.000		
P_JUSGO	0.223	0.191	0.110	0.237	0.089	0.072	0.085	0.123	-0.029	0.025	0.235	0.152	0.385	0.000	
L_JUSGO	0.133	0.123	0.101	0.223	0.121	0.082	0.074	0.095	-0.007	-0.020	0.225	0.105	0.335	0.004	0.000
PC_CUIMT	0.346	0.306	0.178	0.149	0.155	0.199	0.276	0.319	0.301	0.279	0.110	0.255	0.110	0.308	0.287
L_APOGO	0.155	0.104	0.043	0.171	0.071	0.060	0.051	0.089	0.085	0.061	0.177	0.072	0.283	0.079	0.065
P_APOGO	0.201	0.110	0.187	0.299	0.281	0.238	0.175	0.207	0.258	0.204	0.324	0.143	0.413	0.324	0.204
P_AGBMT	0.096	0.062	0.121	0.251	0.174	0.129	0.080	0.074	0.119	0.088	0.257	0.067	0.377	0.167	0.089
L_AGBMT	0.133	0.049	0.123	0.247	0.197	0.175	0.131	0.128	0.192	0.145	0.263	0.106	0.361	0.227	0.145
P_RVEBA	0.158	0.140	0.118	0.209	0.152	0.113	0.114	0.131	0.122	0.105	0.177	0.112	0.255	0.135	0.106
P_MOAGO	0.269	0.245	0.193	0.272	0.155	0.193	0.206	0.265	0.207	0.195	0.246	0.212	0.340	0.207	0.190
P_PLGGO	0.157	0.145	0.092	0.216	0.102	0.079	0.092	0.126	0.069	0.066	0.199	0.116	0.287	0.078	0.051
L_PTUMG	0.133	0.127	0.120	0.257	0.146	0.118	0.089	0.113	0.044	0.028	0.247	0.096	0.352	0.034	0.024
L_PIPMG	0.177	0.154	0.125	0.251	0.137	0.127	0.089	0.115	0.067	0.060	0.272	0.120	0.369	0.052	0.053
P_RIAMG	0.205	0.164	0.151	0.261	0.184	0.128	0.096	0.106	0.093	0.075	0.289	0.138	0.390	0.100	0.071
P_ARAMG	0.093	0.076	0.119	0.255	0.174	0.147	0.090	0.113	0.105	0.070	0.267	0.086	0.371	0.116	0.070
P_BAMMG	0.210	0.170	0.106	0.253	0.112	0.110	0.074	0.121	0.050	0.054	0.250	0.120	0.339	0.037	0.040
P_CANMG	0.200	0.171	0.140	0.285	0.158	0.143	0.091	0.116	0.097	0.095	0.289	0.139	0.381	0.089	0.081
P_COGMG	0.136	0.103	0.106	0.255	0.181	0.160	0.112	0.135	0.153	0.121	0.256	0.102	0.336	0.180	0.120
P_POSGO	0.214	0.156	0.136	0.250	0.196	0.173	0.126	0.157	0.157	0.124	0.268	0.129	0.345	0.186	0.118
L_JAPMG	0.188	0.146	0.149	0.271	0.157	0.150	0.100	0.131	0.093	0.058	0.257	0.104	0.386	0.085	0.063
P_JAPMG	0.171	0.136	0.149	0.253	0.170	0.143	0.105	0.123	0.088	0.055	0.250	0.111	0.388	0.091	0.061

continuação

	P_BJAGO	L_BJAGO	P_SELMS	L_SELMS	PC_AGCMS	L_AGCMS	L_BANMS	L_SONMS	P_PIRGO	L_PIRGO	PC_GCAMT	L_GCAMT	PC_PRLMT	P_JUSGO	L_JUSGO
P_PERMG	0.151	0.131	0.096	0.230	0.120	0.089	0.078	0.107	0.033	0.033	0.234	0.120	0.327	0.041	0.021
L_PERMG	0.169	0.122	0.091	0.222	0.137	0.098	0.077	0.117	0.075	0.047	0.237	0.102	0.354	0.101	0.049
P_ARRTO	0.112	0.112	0.104	0.222	0.111	0.121	0.096	0.142	0.110	0.091	0.200	0.097	0.315	0.109	0.091
L_COCMT	0.126	0.068	0.108	0.203	0.174	0.160	0.116	0.127	0.181	0.129	0.208	0.081	0.296	0.212	0.138
P_FORMG	0.195	0.148	0.133	0.260	0.182	0.138	0.079	0.097	0.099	0.085	0.269	0.101	0.374	0.103	0.076
L_FORMG	0.143	0.105	0.121	0.248	0.156	0.120	0.073	0.090	0.082	0.055	0.270	0.093	0.375	0.110	0.056

continuação

	PC_CUIMT	L_APOGO	P_APOGO	P_AGBMT	L_AGBMT	P_RVEBA	P_MOAGO	P_PLGGO	L_PTUMG	L_PIPMG	P_RIAMG	P_ARAMG	P_BAMMG	P_CANMG	P_COGMG
PC_CUIMT	0.000														
L_APOGO	0.237	0.000													
P_APOGO	0.370	0.188	0.000												
P_AGBMT	0.311	0.084	0.174	0.000											
L_AGBMT	0.331	0.111	0.133	0.077	0.000										
P_RVEBA	0.233	0.079	0.195	0.063	0.153	0.000									
P_MOAGO	0.281	0.178	0.327	0.274	0.272	0.182	0.000								
P_PLGGO	0.268	0.078	0.235	0.158	0.153	0.113	0.141	0.000							
L_PTUMG	0.319	0.070	0.239	0.124	0.154	0.117	0.202	0.056	0.000						
L_PIPMG	0.322	0.071	0.258	0.137	0.167	0.143	0.222	0.071	0.041	0.000					
P_RIAMG	0.342	0.080	0.242	0.136	0.147	0.132	0.244	0.080	0.071	0.050	0.000				
P_ARAMG	0.332	0.095	0.104	0.086	0.116	0.122	0.248	0.098	0.082	0.105	0.108	0.000			
P_BAMMG	0.310	0.062	0.263	0.158	0.181	0.139	0.198	0.044	0.039	0.032	0.086	0.107	0.000		
P_CANMG	0.346	0.087	0.282	0.154	0.178	0.142	0.218	0.060	0.058	0.030	0.071	0.123	0.029	0.000	
P_COGMG	0.324	0.121	0.120	0.122	0.127	0.148	0.263	0.132	0.126	0.167	0.185	0.076	0.144	0.159	0.000
P_POSGO	0.326	0.111	0.240	0.160	0.151	0.163	0.265	0.111	0.115	0.105	0.118	0.138	0.095	0.101	0.140
L_JAPMG	0.325	0.092	0.254	0.139	0.169	0.155	0.231	0.089	0.060	0.046	0.061	0.108	0.047	0.074	0.176
P_JAPMG	0.318	0.102	0.246	0.123	0.158	0.143	0.252	0.096	0.068	0.056	0.047	0.107	0.075	0.086	0.173
P_PERMG	0.295	0.071	0.213	0.122	0.155	0.115	0.191	0.031	0.044	0.061	0.090	0.066	0.024	0.065	0.116
L_PERMG	0.291	0.067	0.218	0.140	0.152	0.124	0.216	0.087	0.074	0.111	0.120	0.059	0.089	0.127	0.114
P_ARRTO	0.272	0.089	0.216	0.115	0.167	0.122	0.138	0.092	0.098	0.143	0.169	0.126	0.110	0.136	0.137
L_COCMT	0.271	0.101	0.101	0.069	0.041	0.124	0.243	0.132	0.158	0.170	0.145	0.104	0.161	0.180	0.129
P_FORMG	0.332	0.076	0.234	0.103	0.141	0.122	0.248	0.094	0.071	0.064	0.046	0.103	0.064	0.051	0.152
L_FORMG	0.317	0.062	0.214	0.051	0.108	0.082	0.217	0.096	0.061	0.053	0.057	0.085	0.084	0.059	0.141

continuação

	P_POSGO	L_JAPMG	P_JAPMG	P_PERMG	L_PERMG	P_ARRTO	L_COCMT	P_FORMG	L_FORMG
P_POSGO	0.000								
L_JAPMG	0.112	0.000							
P_JAPMG	0.110	0.002	0.000						
P_PERMG	0.111	0.090	0.095	0.000					
L_PERMG	0.144	0.140	0.146	0.025	0.000				
P_ARRTO	0.184	0.140	0.152	0.100	0.122	0.000			
L_COCMT	0.143	0.143	0.137	0.136	0.127	0.161	0.000		
P_FORMG	0.083	0.057	0.055	0.087	0.131	0.155	0.132	0.000	
L_FORMG	0.112	0.080	0.066	0.075	0.105	0.126	0.109	0.024	0.000

APÊNDICE III

Apêndice III - Relação dos locos que apresentaram desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (em negrito), analisados pelo teste de Fischer, para as 32 subpopulações de *H. stigonocarpa*.

População	Hc 14	Hc 17	Hc 33	Hc 40	Hc 42	Hym 01	Hym 02	Hym 05	Hym 06
Bom Jardim GO	1.000	0.445	1.000	0.777	0.033	0.009	1.000	0.070	0.485
Selvíria MS	0.005	0.008	0.004	0.284	0.001	0.001	0.298	0.041	0.018
Água Clara MS	0.673	0.561	0.121	0.139	0.036	0.034	0.036	0.133	0.338
Bandeirantes MS	0.000	0.862	1.000	0.470	0.616	0.360	1.000	0.000	0.226
Sonora MS	0.000	0.114	1.000	0.467	0.617	0.361	1.000	0.000	0.140
Pires do Rio GO	0.565	0.315	1.000	0.568	0.728	0.391	1.000	0.003	0.113
General Carneiro MT	0.005	0.050	0.005	0.292	0.000	0.000	1.000	0.001	0.006
Primavera do Leste-MT	1.000	0.193	1.000	0.213	0.000	0.008	1.000	0.344	0.279
Jussara-GO	0.141	0.454	1.000	0.713	0.738	0.713	1.000	0.040	0.204
Cuibá-MT	0.004	0.846	1.000	0.758	0.000	0.047	0.514	0.208	0.264
Aporé GO	0.226	0.003	1.000	0.057	0.461	0.000	1.000	0.005	0.060
Água Boa MT	1.000	0.305	1.000	0.035	0.082	0.049	1.000	0.853	0.197
Mozarlândia GO	1.000	0.162	1.000	0.181	0.077	0.054	1.000	0.047	0.546
Jaraguá GO	1.000	0.830	1.000	0.366	0.003	0.005	0.885	0.000	0.298
Roda Velha BA (São Desiderio)	0.509	0.434	0.000	0.038	0.038	0.218	1.000	0.029	0.138
Monte Alegre GO	0.317	0.229	0.001	0.331	0.207	0.066	0.150	0.054	0.388
Planaltina de Goiás GO	0.674	0.657	0.442	0.044	0.060	0.942	1.000	0.000	0.358
Paracatu MG	0.000	0.029	1.000	0.160	0.220	0.118	1.000	0.739	0.126
Pirapora MG	0.281	0.474	1.000	0.044	0.572	0.177	0.768	0.028	0.194
Riachinho MG	1.000	0.498	1.000	0.073	1.000	0.706	1.000	0.000	0.768
Araguari MG	0.010	0.818	1.000	0.867	0.985	0.042	1.000	0.459	0.304
Bambuí MG	0.003	0.001	1.000	0.864	0.479	0.602	0.387	0.000	0.159
Candeias MG	0.006	0.606	1.000	0.005	1.000	0.240	1.000	0.030	0.923

<i>continuação</i>									
População	Hc 14	Hc 17	Hc 33	Hc 40	Hc 42	Hym 01	Hym 02	Hym 05	Hym 06
Comendador Gomes MG	0.073	0.050	1.000	0.475	0.258	0.254	1.000	0.000	0.659
Posse GO	0.364	0.692	1.000	0.033	0.294	0.085	0.374	0.000	0.163
Japonvar MG	1.000	0.732	1.000	0.000	0.061	0.020	0.482	0.000	0.339
Perdizes MG	0.120	0.128	1.000	0.275	0.708	0.031	1.000	0.068	0.232
Arraias TO	0.386	0.248	1.000	0.657	0.090	0.946	1.000	0.002	0.000
São Miguel do Araguaia GO	1.000	0.685	1.000	0.310	0.392	0.097	1.000	0.973	0.637
Porangatu GO	1.000	0.163	1.000	0.311	0.072	0.000	0.014	0.003	0.167
Cocalinho	1.000	0.020	0.000	0.026	0.000	0.360	0.061	0.138	0.385
Formoso/MG	0.154	0.269	1.000	0.210	0.385	0.763	1.000	0.000	0.291

APÊNDICE IV

Apêndice IV – F_{ST} par a par entre as 30 subpopulações, obtidos no programa FSTAT, utilizados para as análises de estrutura genética espacial em *H. stigonocarpa*.

	BJAGO	SELMs	AGCMS	BANMS	SONMS	PIRGO	GCAMT	JUSGO	APOGO	AGBMT	MOZGO	JARGO	RVEBA	MOAGO	PLGGO	PTUMG	PIPMG	RIAMG	ARAMG	BAMMG
BJAGO	0.000																			
SELMs	0.170	0.000																		
AGCMS	0.173	0.085	0.000																	
BANMS	0.118	0.122	0.089	0.000																
SONMS	0.117	0.160	0.124	0.041	0.000															
PIRGO	0.143	0.159	0.080	0.084	0.107	0.000														
GCAMT	0.064	0.134	0.138	0.077	0.111	0.129	0.000													
JUSGO	0.128	0.155	0.081	0.076	0.098	-0.014	0.114	0.000												
APOGO	0.071	0.136	0.132	0.087	0.118	0.131	0.070	0.119	0.000											
AGBMT	0.051	0.166	0.164	0.119	0.113	0.159	0.094	0.144	0.068	0.000										
MOZGO	0.066	0.163	0.196	0.125	0.141	0.182	0.092	0.167	0.069	0.041	0.000									
JARGO	0.069	0.204	0.233	0.148	0.177	0.190	0.087	0.176	0.101	0.121	0.088	0.000								
RVEBA	0.134	0.147	0.114	0.113	0.130	0.116	0.110	0.111	0.108	0.135	0.161	0.180	0.000							
MOAGO	0.242	0.214	0.192	0.205	0.263	0.201	0.210	0.192	0.236	0.266	0.260	0.262	0.181	0.000						
PLGGO	0.135	0.144	0.087	0.099	0.129	0.070	0.112	0.058	0.135	0.145	0.162	0.203	0.117	0.146	0.000					
PTUMG	0.115	0.177	0.117	0.088	0.112	0.036	0.095	0.025	0.133	0.141	0.164	0.183	0.116	0.201	0.059	0.000				
PIPMG	0.150	0.174	0.125	0.089	0.115	0.062	0.120	0.052	0.149	0.157	0.187	0.204	0.142	0.221	0.074	0.039	0.000			
RIAMG	0.158	0.182	0.125	0.095	0.105	0.081	0.136	0.072	0.130	0.134	0.173	0.218	0.130	0.241	0.080	0.067	0.049	0.000		
ARAMG	0.066	0.174	0.148	0.091	0.113	0.092	0.085	0.078	0.051	0.103	0.118	0.121	0.121	0.248	0.097	0.081	0.105	0.107	0.000	
BAMMG	0.161	0.181	0.134	0.086	0.120	0.063	0.116	0.052	0.143	0.162	0.173	0.215	0.140	0.207	0.055	0.042	0.031	0.079	0.104	0.000
CANMG	0.164	0.198	0.141	0.090	0.115	0.091	0.138	0.080	0.164	0.166	0.195	0.229	0.140	0.217	0.064	0.056	0.028	0.070	0.123	0.032
COGMG	0.100	0.171	0.159	0.111	0.134	0.141	0.101	0.129	0.075	0.119	0.122	0.146	0.147	0.262	0.137	0.126	0.168	0.184	0.076	0.148
POSGO	0.159	0.176	0.170	0.125	0.155	0.142	0.126	0.127	0.148	0.143	0.141	0.188	0.160	0.263	0.111	0.112	0.104	0.116	0.136	0.093
JAPMG	0.140	0.197	0.153	0.106	0.127	0.080	0.110	0.068	0.143	0.150	0.171	0.194	0.151	0.244	0.094	0.063	0.051	0.050	0.106	0.053

continuação

	BJAGO	SELMS	AGCMS	BANMS	SONMS	PIRGO	GCAMT	JUSGO	APOGO	AGBMT	MOZGO	JARGO	RVEBA	MOAGO	PLGGO	PTUMG	PIPMG	RIAMG	ARAMG	BAMMG
PERMG	0.124	0.153	0.091	0.079	0.109	0.035	0.116	0.028	0.114	0.142	0.153	0.187	0.118	0.195	0.036	0.048	0.069	0.091	0.062	0.049
ARRTO	0.103	0.153	0.118	0.094	0.139	0.103	0.094	0.094	0.132	0.155	0.159	0.150	0.121	0.136	0.099	0.097	0.141	0.165	0.127	0.126
SMAGO	0.169	0.191	0.232	0.187	0.204	0.236	0.150	0.222	0.139	0.120	0.085	0.195	0.207	0.331	0.212	0.211	0.231	0.209	0.202	0.234
PORGO	0.126	0.162	0.178	0.140	0.161	0.154	0.123	0.139	0.106	0.095	0.071	0.170	0.194	0.285	0.135	0.146	0.147	0.146	0.132	0.149
COCMT	0.072	0.139	0.158	0.114	0.126	0.163	0.078	0.150	0.057	0.037	0.033	0.112	0.122	0.241	0.131	0.156	0.171	0.144	0.102	0.154
FORMG	0.128	0.176	0.132	0.077	0.093	0.080	0.096	0.070	0.109	0.110	0.139	0.174	0.106	0.236	0.090	0.063	0.056	0.042	0.093	0.063

continuação

	CANMG	COGMG	POSGO	JAPMG	PERMG	ARRTO	SMAGO	PORGO	COCMT	FORMG
CANMG	0.000									
COGMG	0.158	0.000								
POSGO	0.099	0.139	0.000							
JAPMG	0.078	0.176	0.110	0.000						
PERMG	0.074	0.115	0.114	0.102	0.000					
ARRTO	0.133	0.135	0.181	0.150	0.105	0.000				
SMAGO	0.245	0.189	0.161	0.228	0.212	0.235	0.000			
PORGO	0.177	0.147	0.126	0.138	0.144	0.188	0.073	0.000		
COCMT	0.179	0.128	0.141	0.141	0.133	0.159	0.113	0.091	0.000	
FORMG	0.048	0.147	0.089	0.055	0.085	0.145	0.189	0.145	0.123	0.000

APÊNDICE V

Apêndice V – Índices *I* de Moran médios calculados para as 184 frequências alélicas em *H. stigonocarpa*, para a análise de autocorrelação espacial. Os valores em negrito foram significativos ao nível de 5%.

Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor
1	-0.043	0.298	47	-0.033	0.967	93	0.009	0.585	139	-0.037	0.969
2	0.069	0.205	48	0.092	0.118	94	0.310	0.000	140	0.089	0.137
3	0.252	0.001	49	0.083	0.141	95	0.079	0.169	141	0.118	0.068
4	0.033	0.418	50	0.249	0.000	96	0.304	0.000	142	0.127	0.044
5	0.149	0.013	51	0.263	0.000	97	-0.057	0.746	143	-0.073	0.621
6	-0.056	0.592	52	0.259	0.000	98	0.241	0.001	144	0.000	0.666
7	0.195	0.002	53	0.087	0.118	99	0.071	0.179	145	0.217	0.002
8	0.342	0.000	54	0.100	0.040	100	0.182	0.003	146	0.094	0.058
9	0.274	0.000	55	-0.028	0.800	101	0.130	0.041	147	-0.039	0.950
10	0.132	0.000	56	-0.038	0.966	102	0.189	0.001	148	0.102	0.067
11	-0.034	0.957	57	-0.031	0.689	103	0.186	0.000	149	0.230	0.000
12	0.013	0.440	58	-0.031	0.689	104	0.198	0.003	150	-0.053	0.584
13	0.052	0.249	59	0.057	0.219	105	0.079	0.109	151	-0.036	0.831
14	0.272	0.000	60	0.041	0.279	106	-0.033	0.973	152	-0.056	0.741
15	0.057	0.144	61	0.396	0.000	107	-0.017	0.784	153	-0.040	0.929
16	0.096	0.104	62	-0.080	0.504	108	-0.047	0.848	154	-0.046	0.179
17	0.236	0.001	63	-0.036	0.831	109	0.037	0.017	155	-0.034	0.957
18	0.080	0.159	64	-0.047	0.840	110	-0.024	0.207	156	0.044	0.013
19	0.049	0.321	65	-0.008	0.557	111	-0.017	0.043	157	-0.045	0.240
20	0.188	0.003	66	0.070	0.185	112	0.020	0.218	158	-0.064	0.569
21	0.387	0.000	67	0.017	0.531	113	-0.016	0.751	159	-0.045	0.240

continuação

Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor	Nº	<i>I</i> de Moran observado	p-valor
22	-0.029	0.544	68	0.171	0.013	114	0.216	0.001	160	-0.045	0.240
23	-0.024	0.878	69	-0.055	0.797	115	-0.071	0.569	161	-0.029	0.930
24	0.061	0.001	70	-0.043	0.890	116	0.043	0.355	162	0.109	0.011
25	-0.067	0.576	71	0.112	0.058	117	-0.026	0.918	163	-0.046	0.179
26	-0.043	0.917	72	-0.059	0.677	118	0.157	0.000	164	-0.008	0.715
27	0.040	0.341	73	0.030	0.378	119	-0.045	0.884	165	-0.079	0.534
28	0.063	0.000	74	-0.044	0.900	120	-0.077	0.506	166	0.172	0.014
29	0.019	0.497	75	-0.103	0.393	121	-0.037	0.767	167	0.204	0.004
30	-0.029	0.510	76	-0.103	0.374	122	0.126	0.007	168	0.080	0.170
31	0.295	0.000	77	0.147	0.020	123	0.032	0.334	169	0.057	0.200
32	0.266	0.000	78	-0.029	0.945	124	0.057	0.209	170	-0.036	0.977
33	0.067	0.225	79	0.002	0.657	125	0.097	0.086	171	0.075	0.174
34	0.094	0.058	80	-0.074	0.627	126	0.117	0.011	172	0.101	0.000
35	0.123	0.036	81	-0.008	0.611	127	0.077	0.113	173	0.144	0.018
36	0.258	0.000	82	-0.030	0.593	128	0.216	0.001	174	-0.053	0.477
37	0.016	0.541	83	-0.074	0.538	129	-0.043	0.903	175	-0.062	0.694
38	-0.039	0.950	84	-0.018	0.809	130	-0.043	0.887	176	-0.037	0.767
39	0.005	0.619	85	0.104	0.053	131	0.024	0.465	177	0.373	0.000
40	0.256	0.000	86	0.008	0.272	132	0.147	0.027	178	0.154	0.002
41	0.084	0.135	87	0.094	0.066	133	0.081	0.117	179	-0.045	0.240
42	-0.063	0.731	88	-0.034	0.971	134	0.165	0.012	180	-0.021	0.124
43	0.090	0.125	89	-0.030	0.567	135	0.003	0.485	181	-0.058	0.735
44	0.140	0.033	90	-0.030	0.593	136	0.099	0.078	182	-0.045	0.240
45	-0.011	0.773	91	-0.046	0.179	137	0.106	0.065	183	-0.090	0.385
46	-0.001	0.666	92	-0.046	0.179	138	0.310	0.000	184	-0.047	0.140