

## Variabilidade Genética de Fragmentos Naturais de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. no Bioma Mata Atlântica

Karol Buuron Silva<sup>1</sup>, Lia Rejane Silveira Reiniger<sup>1</sup>, Caetano Miguel Lemos Serrote<sup>1</sup>, Silvia Machado dos Santos Rabaiolli<sup>1</sup>, Valdir Marcos Stefenon<sup>2</sup>, Leonardo Severo da Costa<sup>1</sup> & Ana Cristina da Fonseca Ziegler<sup>1</sup>

Recebido em 07/07/2020 – Aceito em 26/02/2021

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Núcleo de Biotecnologia e Melhoramento, Santa Maria/RS, Brasil. CEP: 97.105-900. <karolbuuron@hotmail.com, liarsr@ufsm.br, serrotec@yahoo.com.br, silviaufsm@gmail.com, leonardosev@gmail.com, cristina.ziegler@gmail.com>.

<sup>2</sup> Federal do Pampa, São Gabriel/RS, Brasil. CEP: 97.300-000. <valdir.stefenon@ufsc.br>.

**RESUMO** – No presente estudo foram usados marcadores microsatélites para estimar a variabilidade genética em três fragmentos naturais de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. localizados em municípios do estado do Rio Grande do Sul no bioma Mata Atlântica, visando identificar seu potencial para coletas de germoplasma para uso em programas de reabilitação de áreas degradadas. Com auxílio do software GenAlEx v. 6.5, foram estimados parâmetros da variabilidade genética e sua partição entre e dentro dos fragmentos analisados. Foi observada uma maior variabilidade genética dentro dos fragmentos (77%), o que é esperado para espécies cuja reprodução é predominantemente por cruzamentos e estimado um fluxo gênico superior a 1 ( $Nm = 3,853$ ), o que é suficiente para homogeneizar as frequências alélicas e tornar os fragmentos similares geneticamente. Em decorrência do elevado fluxo gênico entre os fragmentos, o índice de estruturação genética foi baixo ( $F_{ST} = 0,072$ ), o que os torna menos suscetíveis aos efeitos adversos da fragmentação. Dessa forma, constatamos que há variabilidade genética nos fragmentos de *L. divaricata* estudados, informação relevante para o planejamento de programas de recuperação de áreas degradadas, em cujas coletas de germoplasma deverá ser priorizado o número de indivíduos por fragmento.

**Palavras-chave:** Erosão genética; fluxo gênico; germoplasma, reabilitação de áreas degradadas.

### Genetic Variability of Natural Fragments of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. in the Atlantic Forest Biome

**ABSTRACT** – In this study we used microsatellite markers to analyse the genetic variability of three natural fragments of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. in the Atlantic Forest, aiming to identify their potential for use in rehabilitation of degraded areas. With the GenAlEx v. 6.5 software, genetic variability parameters and its partition between and within fragments were estimated. Higher genetic variability was observed within the analyzed fragments (77%), which is expected for species whose reproduction is predominantly by crosses. A gene flow greater than 1 ( $Nm = 3.853$ ) was estimated, which is sufficient to homogenize allelic frequencies and make genetically similar fragments. Due to the high gene flow between fragments, the genetic differentiation index was low ( $F_{ST} = 0.072$ ), which makes them less susceptible to the adverse effects of fragmentation. Therefore, we found that there is genetic variability in the studied *L. divaricata* fragments, and this information is relevant for planning recovery of degraded areas, in which germplasm collections should prioritize the number of individuals per fragment.

**Keywords:** Genetic erosion; gene flow; germplasm; rehabilitation of degraded areas.

### Variabilidad Genética de Fragmentos Naturales de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. en el Bioma Mata Atlántica

**RESUMEN** – En el presente estudio, se utilizaron marcadores microsatélites para estimar la variabilidad genética en tres fragmentos naturales de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. ubicados en municipios del estado de Rio Grande do Sul en el bioma Mata Atlântica, con el objetivo de identificar



su potencial en colecciones de germoplasma para ser usado en Programas de rehabilitación de zonas degradadas. Con la ayuda de lo software GenAlEx v. 6.5 se estimaron parámetros de variabilidad genética y su separación entre y dentro de los fragmentos analizados. Se observó una mayor variabilidad genética dentro de los fragmentos (77%), que se espera para especies cuya reproducción es predominantemente por cruzamiento y un flujo genético estimado mayor a 1 ( $Nm = 3.853$ ), que es suficiente para homogeneizar las frecuencias alélicas y hacer fragmentos similares genéticamente. Debido al alto flujo de genes entre los fragmentos, el índice de estructuración genética fue bajo ( $F_{ST} = 0.072$ ), lo que los hace que sean menos susceptibles a los efectos adversos de la fragmentación. De esta manera, encontramos que existe variabilidad genética en los fragmentos de *L. divaricata* estudiados, información relevante para la planificación de programas de recuperación de áreas degradadas, en cuyas colecciones de germoplasma se debe priorizar el número de individuos por fragmento.

**Palabras clave:** Erosión genética; flujo génico; germoplasma; rehabilitación de áreas degradadas.

## Introdução

A intensa degradação e a perda da cobertura florestal estão gerando uma grande preocupação nas últimas décadas no que diz respeito à perda da biodiversidade dos biomas brasileiros. O estabelecimento de campos de cultivo e agropecuária que se estendem por grandes áreas, principalmente na região sul do país, onde inicialmente a cobertura nativa predominava, levou à devastação de grande parte dos biomas sulinos (Roesch *et al.*, 2009).

Como consequência dessas atividades humanas, os biomas brasileiros encontram-se fragmentados, afetando diretamente sua biodiversidade. A fragmentação florestal corresponde ao processo pelo qual uma área contínua de *habitat* é reduzida em tamanho e dividida em dois ou mais espaços separados por uma matriz de *habitat* diferentes do original. Neste processo, ocorre separação não natural de áreas amplas com diversidade de tamanho, forma, grau de isolamento, tipos de vizinhança e histórico de perturbações, que podem vir a comprometer a conservação da biodiversidade (Souza *et al.*, 2014).

Assim como outras espécies florestais brasileiras, *Luehea divaricata* Mart. & Zucc., nativa dos biomas Pampa e Mata Atlântica, teve suas populações naturais fragmentadas pela ação antrópica (Carvalho, 2008; Flôres *et al.*, 2011). *L. divaricata*, integrante da família Malvaceae, tem ocorrência natural desde o Sul da Bahia até o Rio Grande do Sul na mata semidecídua, sendo conhecida popularmente nesses locais como açoita-cavalo, caiboti, açoita-cavalo miúdo, ibatingui, pau-de-canga. Trata-se de uma árvore decídua, heliófita, seletiva higrófila, típica de solos aluviais das bacias hidrográficas, constituindo-se na espécie emergente nas florestas ribeirinhas.

Quanto ao grupo sucessional é classificada como pioneira, secundária inicial a secundária tardia, ou clímax exigente de luz. Apresenta dispersão irregular e descontínua, sendo particularmente frequente ao longo de rios, terrenos rochosos e íngremes, onde a floresta é mais aberta, e nas formações secundárias. Suas flores de diversas tonalidades são muito visitadas, principalmente por insetos como as abelhas e beija-flores, e suas sementes são dispersadas principalmente pelo vento (anemocoria). Possui uma das madeiras brasileiras mais valiosas e de amplo uso, incluindo a fabricação de móveis vergados. Do ponto de vista ambiental, é uma das árvores mais utilizadas na recuperação de áreas degradadas em função da sua adaptação às encostas íngremes, margens de rios e áreas com solo permanentemente encharcado (Carvalho, 2008; Lorenzi, 2008).

Com essa redução no tamanho populacional que *L. divaricata* vem sofrendo ao longo dos últimos anos, pode ocorrer a oscilação aleatória de frequências alélicas de uma população, podendo conduzir à fixação de determinados alelos ao custo da extinção de outros (deriva genética) ou ainda o cruzamento entre indivíduos aparentados, restringindo dessa forma a variabilidade genética (endogamia) (Reed, 2005). Como resultado da atuação desses fatores, tem-se a contínua redução da variabilidade genética, essencial para a evolução e adaptabilidade de populações em função das constantes alterações no ambiente. Em curto prazo, populações com baixa variabilidade genética se tornam mais suscetíveis a doenças e pragas, perda de alelos de incompatibilidade e fixação de alelos deletérios. Já em longo prazo, a perda de variabilidade genética pode conduzir à redução na capacidade das populações em responder às alterações nas pressões de seleção (Templeton, 2011; Hartl & Clark, 2010). Com

isso, as coletas de germoplasma para programas de recuperação de áreas degradadas devem priorizar a maior variabilidade genética possível para se lograr sucesso nesses programas (Gonçalves *et al.*, 2019).

A diversidade genética existente nas populações naturais pode ser estimada por meio de marcadores de DNA, que têm como base o polimorfismo localizado em suas sequências. Entre os marcadores, as repetições de sequências simples (SSR) – também conhecidas como microssatélites – são muito utilizados em programas de reabilitação de áreas degradadas em decorrência de serem co-dominantes, multialélicos e por apresentar alta reprodutividade. Face ao exposto, o objetivo do presente trabalho foi quantificar a variabilidade genética de três fragmentos naturais de *L. divaricata* com marcadores microssatélites com vistas a identificar se nesses fragmentos existe potencial para coleta

de germoplasma para uso em programas de recuperação de áreas degradadas.

## Material e Métodos

### Coleta do material vegetal, isolamento e análise de DNA genômico

Foram coletadas amostras foliares de indivíduos adultos encontrados em três fragmentos naturais de *L. divaricata* no bioma Mata Atlântica, localizados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos municípios de Coronel Barros (28°23'00.2"S 53°59'59.2"W) (sete exemplares), São Pedro do Sul (29°38'08.0"S 54°12'56.8"W) (cinco exemplares) e Restinga Seca (29°44'01.9"S 53°30'24.8"W) (10 exemplares). Os indivíduos estavam distanciados pelo menos cinco metros entre si, e os fragmentos situavam-se próximos a estradas com plantações agrícolas no seu entorno, não havendo nenhum corredor ecológico para interligá-las (Figura 1).

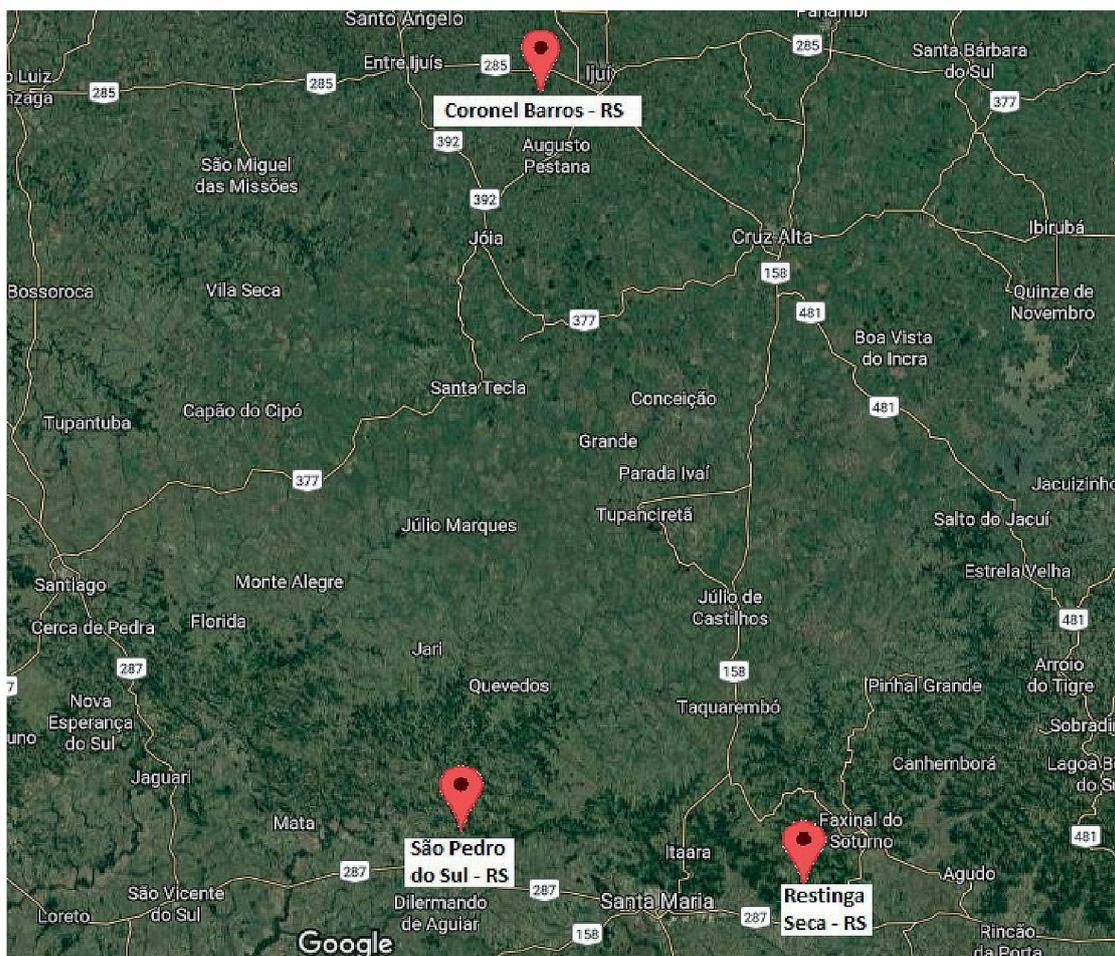


Figura 1 – Localização dos fragmentos naturais onde foram realizadas as coletas de amostras foliares de indivíduos adultos de *L. divaricata* no Rio Grande do Sul. Fonte: Google Maps.



O material vegetal coletado foi acondicionado em sacos de papel do tipo kraft e as amostras foram mantidas em temperatura ambiente até o isolamento de DNA. O isolamento de DNA foi conduzido no Núcleo de Biotecnologia e Melhoramento, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), seguindo adaptações do protocolo de Ferreira & Grattapaglia (1998), conforme determinado por León (2014). Aproximadamente 150mg de tecido foliar fresco, pesado em balança de precisão, foi colocado em gral e macerado em nitrogênio líquido. O macerado foi colocado dentro de um microtubo de centrifuga de 2mL e adicionados 700 $\mu$ L de tampão CTAB (NaCl a 1,4M; Tris HCl pH 8,0 a 100mM; EDTA a 20mM; CTAB a 2%;  $\beta$ -Mercaptoetanol a 0,2%, PVP a 1%) pré-aquecido a 65°C. Na sequência, as amostras foram incubadas em banho-maria a 65°C durante 60min, agitando-se a cada 10min. Após, foram adicionados 600 $\mu$ L de clorofórmio: álcool isoamílico (CIA) (24:1) e os microtubos foram agitados, manualmente, por 5min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 5min a 12000xg, o sobrenadante (500 $\mu$ L) foi transferido para novos microtubos de 1,5mL e adicionados 400 $\mu$ L de isopropanol gelado (a -20°C) misturando-se, suavemente, por inversão dos tubos, várias vezes. Nessa etapa, as amostras foram armazenadas em freezer, à temperatura de -20°C, permanecendo por aproximadamente 18h (*overnight*). No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas por 10min a 12000xg, sendo descartado o sobrenadante. A seguir, foi feita dupla lavagem do precipitado com 1 mL de etanol a 70%, por 5 min, e uma vez com etanol absoluto, por 3min, sendo as amostras colocadas para secar em câmara de fluxo laminar. O DNA isolado foi ressuscitado em 100 $\mu$ L de tampão TE (Tris-HCl a 1M, EDTA a 500mM) pH 8,0 com RNase (10 $\mu$ g mL<sup>-1</sup>), sendo incubados a 37°C por 60min. Por fim, as amostras foram divididas em alíquotas e armazenadas em freezer, a -20°C. A qualidade e a concentração das amostras de DNA genômico obtidas foram realizadas em espectrofotômetro de UV-Vis NanoDrop® ND-1000.

### Amplificação dos fragmentos de DNA

As soluções de DNA foram diluídas para uma concentração 50ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> para posterior amplificação por meio de reações em cadeia da polimerase (PCR), no Núcleo de Genômica e Ecologia Molecular – NuGEM, da Universidade

Federal do Pampa (UNIPAMPA), campus São Gabriel. Foram analisados quatro marcadores microssatélites (Ldiv31; Ldiv40; Ldiv55; Ldiv58) selecionados pelo nível de polimorfismo observado nos fragmentos de *L. divaricata* estudados por Ruas *et al.* (2009).

O volume total de cada reação foi de 12,5 $\mu$ L de solução, contendo cerca de 50ng de DNA *template*, 1X de tampão de PCR, 0,5 $\mu$ M de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen®), 1 U de *Taq* DNA-Polimerase (Invitrogen®), 0,05 $\mu$ M de cada dNTP (Invitrogen®), 0,125 $\mu$ M de cada iniciador (*forward* e *reverse*) e 0,125 $\mu$ M do iniciador M-13 (5'-TGAAAACGACGGCCAGT-3), marcado com fluorescência AlexaFluor-680 (Invitrogen®). As reações de PCR foram realizadas em um Termociclador BIO-RAD C1000 Touch™ (BioRad Co., Hercules, CA, EUA) obedecendo ao seguinte perfil térmico: desnaturação inicial de 96°C por 5min, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 50°C por 1min, extensão a 72°C por 7min e uma extensão final a 72°C por 7min.

Posteriormente, os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% (p/v) utilizando-se um sequenciador de DNA automático Li-Cor 4300 S (LiCor Inc., Lincoln, NB, EUA), os quais foram automaticamente detectados e analisados pelo SAGA-GT Software® (LiCor Inc.). Simultaneamente, foi efetuada uma verificação visual em cada gel a fim de corrigir eventuais erros de marcação das bandas pelo *software*.

### Análise da variabilidade genética

A partir dos dados obtidos, foram estimados os parâmetros genéticos populacionais usando-se o *software* GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012). Para cada marcador microssatélite foram estimados o número total de alelos (N), o número efetivo de alelos (Ne), a heterozigosidade observada (H<sub>O</sub>), a heterozigosidade esperada (H<sub>E</sub>), o índice de fixação populacional (F<sub>IS</sub>), o índice de estruturação genética (F<sub>ST</sub>) e, também, foi testado o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).

### Análise da estruturação genética

No *software* GenAlEx 6.5 foi realizada uma análise de variância molecular (AMOVA) para particionar a variabilidade genética entre e dentro

dos fragmentos. Adicionalmente, com base nos valores do  $F_{ST}$  foram obtidos os valores do fluxo gênico para cada par de fragmentos naturais de *L. divaricata* estudados, em termos de número de migrantes por geração ( $Nm$ ), usando a expressão (Wright, 1951):

$$Nm = \frac{1}{4} \left( \frac{1}{F_{ST}} - 1 \right)$$

em que  $F_{ST}$  é o índice de estruturação genética entre populações,  $N$  é o tamanho da população,  $m$ , a taxa de migração (proporção de migrantes) e,  $Nm$ , o número de migrantes por geração.

## Resultados e Discussão

### Variabilidade genética

Com o maior número de indivíduos, Restinga Seca foi o fragmento com os maiores valores de heterozigosidade ( $H_O = 0,7$ ;  $H_E = 0,448$ ), o que implica em maior variabilidade genética, já São Pedro do Sul ( $H_O = 0,2$ ;  $H_E = 0,18$ ), o menor fragmento, apresentou a menor variabilidade (Tabela 1). As regiões amplificadas apresentaram polimorfismo nos três fragmentos naturais, revelando, cada *locus*, dois alelos em cada

fragmento (Tabela 2), exceto São Pedro do Sul com o *locus* Ldiv58, motivo pelo qual foi excluído das análises subsequentes. O baixo número de alelos obtidos (2 alelos/fragmento) pode estar associado a um processo de fragmentação das populações originais, haja vista o igualmente reduzido número de indivíduos nos remanescentes (22 no total). *Luehea divaricata* é considerada uma espécie pioneira (Lorenzi, 2008) e possui distribuição agregada (Nascimento *et al.*, 2001), o que propicia a ocorrência de endogamia, considerando que a proximidade entre indivíduos pode indicar que sejam descendências de poucas árvores genitoras. Como resultado dos cruzamentos endogâmicos, ocorre a redução da diversidade genética (Charlesworth, 2003). Entretanto, por se tratar de uma espécie alógama (Ruas *et al.*, 2009) e em decorrência do intenso fluxo gênico entre os fragmentos ( $Nm > 1$ ; Tabela 3), os valores de heterozigosidade foram similares aos obtidos por Nagel *et al.* (2015) em populações de *L. divaricata* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, em que foram utilizados os mesmos *loci* do presente trabalho (para além do *locus* Ldiv48), em que a  $H_O$  variou entre 0,42 e 0,57 e a  $H_E$  entre 0,53 e 0,77. No mesmo estudo foi também constatado que a reprodução por cruzamentos e o fluxo gênico favorecem um aumento nos valores de diversidade genética como a heterozigosidade.

Tabela 1 – Estimativa de parâmetros genéticos em quatro *loci* microssatélites para 22 indivíduos de três fragmentos de *L. divaricata* coletados no bioma Mata Atlântica.

Locus	A	$A_e$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$
Ldiv31	2	1,550	0,476	0,332	-0,350
Ldiv40	2	1,550	0,476	0,332	-0,350
Ldiv55	2	1,403	0,348	0,256	-0,242
Ldiv58	2	1,6	0,5	0,375	-0,333
Média	2	1,526	0,450	0,324	-0,319

A = número médio de alelos por *locus* por fragmento;  $A_e$  = número médio efetivo de alelos por *locus* por fragmento;  $H_O$  = heterozigosidade observada;  $H_E$  = heterozigosidade esperada; e  $F_{IS}$  = Índice de Fixação.

Tabela 2 – Estimativa de índices de diversidade genética para três fragmentos de *L. divaricata* coletados no bioma Mata Atlântica.

Fragmentos	N	A	$A_e$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$
Coronel Barros	7	2	1,442	0,375	0,295	-0,239
São Pedro do Sul	5	2	1,220	0,200	0,180	-0,111
Restinga Seca	10	2	1,820	0,700	0,448	-0,551

$n$  = número de indivíduos analisados; A = número de alelos por *locus*;  $A_e$  = número efetivo de alelos por *locus*;  $H_O$  = heterozigosidade observada;  $H_E$  = heterozigosidade esperada; e  $F_{IS}$  = índice de fixação



Considerando o baixo número de alelos por locus observado em cada população, sugere-se que a fragmentação tenha conduzido à redução da base genética e, conseqüentemente, da diversidade genética. Resultado semelhante foi relatado por Nagel *et al.* (2015) que obtiveram entre 2 e 11 alelos, e um número efetivo entre 1,15 e 7,81, a partir da amostragem de 128 indivíduos em cinco populações de *L. divaricata* localizadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Os valores da heterozigosidade observada ( $H_O$ ) para a maioria dos loci avaliados nos três fragmentos, apesar de numericamente superiores aos esperados no equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $H_E$ ) (médias de 0,450 e 0,324, respectivamente) não diferiram significativamente de acordo com o teste de equilíbrio ( $P < 0,05$ ), o que significa que fatores evolutivos não estão atuando de maneira a alterar suas frequências gênicas e genotípicas ao longo das gerações. Constituiu exceção os loci Ldiv31 e Ldiv40 no fragmento de Restinga Seca, no qual a heterozigosidade observada foi superior à esperada, o que sugere um excesso de heterozigotos. Isso é ratificado pelos valores negativos dos índices de fixação ( $F_{IS}$ ) (Tabela 2), que sugerem haver seleção favorável ao genótipo heterozigoto nos loci estudados (Moura *et al.*, 2009). De maneira semelhante, no estudo de Moura *et al.* (2009) utilizando três loci microssatélites em populações de *Solanum lycocarpum* (lobeira) localizadas ao sul do estado de Goiás, Brasil, foram observados valores de  $H_O$  superiores a  $H_E$ , presumivelmente devido à seleção favorável ao genótipo heterozigoto.

Além da seleção, há que se considerar que outros fatores evolutivos também podem estar contribuindo para alterar a distribuição de frequências alélicas e genotípicas, conduzindo a um desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (Frankham *et al.*, 2002), observado em um dos fragmentos de *L. divaricata* estudados no presente trabalho. Considerando o pequeno tamanho populacional dos fragmentos avaliados, fica evidente que mutação, migração e/ou seleção estão sobrepondo-se aos efeitos da deriva genética. Já no estudo de Nagel *et al.* (2015) utilizando cinco loci microssatélites (dos quais quatro foram empregados no presente trabalho) em cinco populações de *L. divaricata* localizadas na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, Brasil, os valores de  $H_O$  foram inferiores aos de  $H_E$  (0,52 e 0,64, respectivamente) devido a

endogamia que ocorreu nessas populações ( $F_{IS} = 0,186$ ) como resultado da fragmentação. A diferença de resultados pode ser devida ao baixo número de indivíduos existentes nos fragmentos do presente estudo, que pode ter contribuído para uma redução na precisão das estatísticas geradas.

### Estruturação genética

A análise de variância molecular (AMOVA) indicou que a maior proporção da variabilidade genética encontra-se distribuída dentro (77%) e apenas 23% entre os fragmentos naturais estudados. Resultado semelhante foi obtido por Nagel *et al.* (2015), em que 76,12% da variabilidade encontrava-se distribuída dentro e 23,88% entre as populações. Já no estudo de Ruas *et al.* (2009), utilizando nove populações de *L. divaricata* no bioma Mata Atlântica brasileiro com cinco marcadores microssatélites, foi registrada uma maior variação dentro das populações (93,16%). Valores altos de variabilidade genética dentro de grupos naturais de indivíduos são esperados ocorrer em espécies cuja reprodução é predominantemente do tipo fecundação cruzada (Vogler & Kalisz, 2001), como é considerada ser *L. divaricata* (Conson *et al.*, 2013), e cujos resultados observados no presente trabalho reforçam que os cruzamentos, aparentemente reduzem eventuais efeitos de deriva e de endogamia, mesmo diante da fragmentação existente, o que poderia ocasionar isolamento reprodutivo. Em função disso, as coletas de germoplasma para programas de reabilitação de áreas degradadas devem priorizar o número de indivíduos por fragmento, tendo em vista que a diferença de variabilidade genética entre fragmentos é baixa, o que justifica que os esforços para coleta tenham que estar concentrados dentro de fragmentos e, desse modo, reduzir os custos de deslocamento associados às coletas.

Dessa forma, no presente estudo, pôde-se constatar a ausência de isolamento reprodutivo entre os fragmentos estudados, tendo sido estimado um fluxo gênico superior a 1 ( $Nm = 3,853$  migrantes/geração – Tabela 3), que é suficiente para homogeneizar as frequências alélicas e tornar os fragmentos similares geneticamente (Slatkin, 1985; Zucchi, 2002). A partir desse fluxo, foram estimados, para todos os pares de fragmentos, baixos valores de estrutura genética ( $G_{ST}$ ) e altos

valores de identidade genética (Tabela 3). Os fragmentos São Pedro do Sul – Coronel Barros foi o que apresentou a menor distância genética (0,024) e a maior identidade genética (0,977). Já os fragmentos São Pedro do Sul – Restinga Seca apresentaram a maior estrutura genética (0,089) e a menor identidade genética (0,915). Esses resultados são coerentes com aqueles relacionados ao fluxo gênico (Tabela 3) entre esses fragmentos. Entretanto, os fragmentos São Pedro do Sul – Restinga Seca são, dentre os estudados, os mais próximos geograficamente (71km), sendo assim, esperado que apresentasse a menor estruturação genética de acordo com a primeira lei da geografia (Tobler, 1970), segundo a qual todas as coisas estão relacionadas umas às outras, mas

coisas próximas estão mais relacionadas do que as distantes. O valor do coeficiente de correlação entre as matrizes de estruturação genética e da distância geográfica foi negativo e significativo ( $r = -0,954$ ,  $p < 0.05$ ), portanto, não foi observado o cumprimento da primeira lei da geografia nos fragmentos estudados, o que é indicativo de ausência de isolamento por distância. No estudo de Nagel *et al.* (2015) foram também obtidos valores baixos de estrutura genética entre as populações estudadas ( $R_{ST}$  entre 0,046 e 0,347), porém, ao contrário do que foi observado no nosso estudo, houve correlação positiva entre as distâncias genética e geográfica devido ao padrão de isolamento por distância observado nessas populações.

Tabela 3 – Estimativas de parâmetros relacionados à estruturação genética entre os fragmentos naturais de *L. divaricata* coletados no bioma Mata Atlântica.

Fragmentos	Nm	G <sub>ST</sub>	Identidade genética de Nei	Distância geográfica (km)	F <sub>ST</sub>
Coronel Barros - São Pedro do Sul	4,884	0,024	0,977	228	0,049
Coronel Barros – Restinga Seca	4,809	0,053	0,949	180	0,049
São Pedro do Sul – Restinga Seca	1,867	0,089	0,915	71	0,118
Média	3,853	0,055	0,947	160	0,072

Nm = Fluxo gênico; G<sub>ST</sub> = Distância genética de Nei; e F<sub>ST</sub> = índice de estruturação genética.

Com a utilização da abordagem F de Wright (1965), foi observado o mesmo padrão de estruturação genética em relação à distância genética de Nei, em que os fragmentos de São Pedro do Sul e de Restinga Seca apresentaram o maior valor (F<sub>ST</sub> = 0,118), possivelmente como resultado do mais baixo fluxo gênico (Nm = 1,867 migrantes/geração) (Tabela 1) entre eles. Contudo, o fluxo gênico não é o único responsável pela redução da estruturação genética entre esses fragmentos, mas também o fato da deriva e seleção favorecerem os mesmos alelos em todos os fragmentos.

Os resultados obtidos no presente trabalho reforçam a importância de se preservar o maior tamanho possível de fragmentos ou populações naturais de maneira a reduzir a erosão genética e assegurar um bom repertório de variabilidade genética, tendo em vista que a heterozigosidade encontra-se diretamente relacionada ao número de indivíduos. Também foi constatado que apesar

da fragmentação, os remanescentes estudados mantêm fluxo gênico suficiente para se contrapor aos efeitos negativos do isolamento reprodutivo, preservando desse modo, a variabilidade genética, já que a mesma permite que os fragmentos estudados sejam adequados para coletas de germoplasma de *L. divaricata* para programas de reabilitação de áreas degradadas.

## Conclusão

No presente estudo constatamos que há variabilidade genética nos fragmentos estudados de *L. divaricata*, sendo que a maior parte encontra-se distribuída dentro desses remanescentes florestais. Dessa forma, reforçamos que as coletas de germoplasma para programas de reabilitação de áreas degradadas, a serem efetuadas nesses locais, podem ser realizadas priorizando-se o número de indivíduos por fragmento.



## Referências

- Carvalho PE. 2008. Açóita-cavalo (*Luehea divaricata*). Circular Técnica, 147. Colombo, PR. 9p.
- Charlesworth D. Effects of inbreeding on the genetic diversity of populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 358(1434): 1051-1070, 2003.
- Conson ARO, *et al.* Genetic structure of the Atlantic Rainforest tree species *Luehea divaricata* (Malvaceae). *Genetica*, 141: 205-215, 2013.
- Ferreira ME & Grattapaglia D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 1 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220p.
- Flôres AV, *et al.* Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. *Ciência Florestal*, 21(1): 175-182, 2011.
- Frankham R, Briscoe DA & Ballou JD. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press. 617p.
- Gonçalves AR, Chaves LJ & Telles MPC. Genetic variability and effective population size in *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae) germplasm collection: tools for breeding programs and genetic conservation. *Genetica*, 147: 359-368, 2019.
- Hartl DL & Clark AG. 2010. Princípios de genética de populações. 4 ed. Porto Alegre: Artmed. 659p.
- León EAB. 2014. Qualidade de sementes, micropropagação, conservação *in vitro* e isolamento de DNA genômico de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria. 209p.
- Lorenzi H. 2008. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1 vol. Nova Odessa: Plantarum. 384p.
- Moura TM, Sebbenn AM, Chaves LJ, Coelho ASG, Oliveira GCX & Kageyama PY. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. *Scientia Forestalis*, 37(82): 143-150, 2009.
- Nagel JC, *et al.* Historical gene flow within and among populations of *Luehea divaricata* in the Brazilian Pampa. *Genetica*, 143(3): 317-29, 2015.
- Nascimento ART, Longhi, SJ & Brena DA. Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de floresta ombrófila mista em Nova Prata, RS. *Ciência Florestal*, 11(1): 105-119, 2001.
- Peakall R & Smouse PE. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539, 2012.
- Reed DH. Relationship between population size and fitness. *Conservation Biology*, 19(2): 563-568, 2005.
- Roesch LFW, *et al.* The Brazilian Pampa: A Fragile Biome. *Diversity*, 1: 182-198, 2009.
- Ruas EA, *et al.* Isolation and characterization of ten microsatellite loci for the tree species *Luehea divaricata* Mart. (Malvaceae) and intergeneric transferability. *Conservation Genetics Resources*, 1(1): 245, 2009.
- Slatkin M. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39(1): 53-65, 1985.
- Templeton AR. 2011. Genética de Populações e Teoria Microevolutiva. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética – SBG. 705p.
- Souza CG, Zanella L, Borém RAT, Carvalho LMT, Alves HMR & Volpato MML. Análise da fragmentação florestal da área de proteção ambiental Coqueiral, Coqueiral/MG. *Ciência Florestal*, 24(3): 631-644, 2014.
- Tobler WR. A computer movie simulating urban growth in the Detroit region. *Economic Geography*, 46(2): 234-240, 1970.
- Vogler DW & Kalisz S. Sex among the flowers: the distribution of plant mating systems. *Evolution*, 55(1): 202-204, 2001.
- Wright S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15(1): 323-354, 1951.
- Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3): 395-420, 1965.
- Zucchi MI. 2002. Análise da estrutura genética *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade de São Paulo. 130p.

Biodiversidade Brasileira – BioBrasil.

Edição Temática: Análise de Componentes do Sistema Climático e a Biodiversidade no Brasil  
n. 4, 2021

<http://www.icmbio.gov.br/revistaeletronica/index.php/BioBR>

Biodiversidade Brasileira é uma publicação eletrônica científica do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) que tem como objetivo fomentar a discussão e a disseminação de experiências em conservação e manejo, com foco em unidades de conservação e espécies ameaçadas.

ISSN: 2236-2886