

Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semi-árido brasileiro

RAPD genetic variability of three endangered tree species in the Brazilian Semi-Arid region

Carlos Antonio Fernandes Santos¹, Viseldo Ribeiro de Oliveira²,
Lúcia Helena Piedade Kiill³, Ivan Ighour Silva Sá⁴

Resumo

A pressão sobre os recursos genéticos do bioma caatinga é bastante acentuada seja devido às condições sócio-econômicas dos habitantes, seja devido à pressão para o estabelecimento de atividades produtivas. O objetivo deste trabalho foi estudar a dispersão da variabilidade genética no Semi-Árido brasileiro para as espécies umburana-de-cheiro *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C. Smith), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* M. Allem.) e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.), com base no marcador de DNA tipo RAPD, para subsidiar estratégias de prospecção e preservação da variabilidade genética das mesmas. Foram analisados 29 indivíduos de umburana-de-cheiro, coletados em cinco diferentes regiões, e 52 indivíduos para aroeira e para baraúna, coletados em 11 ecorregiões definidas pelo Zoneamento Agroecológico do Nordeste, adotando-se para visualização de grupos o procedimento multidimensional 'scaling' (MDS), considerando a matriz de dissimilaridade do coeficiente de Jaccard. Diante das dificuldades para amostragem dos indivíduos, sugere-se que os esforços para estratégias de preservação devam priorizar, numa escala decrescente de importância, a umburana-de-cheiro, a aroeira e a baraúna. Os resultados obtidos para as três espécies sugerem que os indivíduos apresentam diferenças no padrão de bandas em função da região de amostragem, tendo ocorrido à formação de agrupamentos relacionados com o local de amostragem, e que a variabilidade genética destas espécies não está uniformemente distribuída por todo o semi-árido brasileiro. Sugere-se estratégias que resultem no estabelecimento de um maior número de áreas de proteção ambiental para conservação *in situ* ou amostragens de um grande número de indivíduos para conservação *ex situ*, em diferentes Unidades de Paisagens do Zoneamento Agroecológico do Nordeste, para preservação da variabilidade genética das três espécies.

Palavras-chave: *Myracrodruon urundeuva*, *Amburana cearensis*, *Schinopsis brasiliensis*, MDS, Zoneamento Agroecológico

Abstract

The genetic resources of the caatinga ecosystem are under intensive pressure, due to economical conditions of the inhabitants of the region, or due to pressure to establish productive activities. The goal of this work was to study the genetic variability distribution in the Brazilian Semi-Arid region for the tree species umburana-de-cheiro (*Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C. Smith), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* M. Allem.) and baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.), based on RAPD marker, in order to suggest prospecting and preservation strategies of the genetic variability of these species. It was evaluated 29 individuals for umburana-de-cheiro, sampled in five different regions, and 52 individuals for aroeira and for baraúna, sampled in 11 specific regions, with definition based on the Northeast Agroecological Zoning. It was adopted the multidimensional scaling (MDS), based on the Jaccard's dissimilarity coefficient matrix, for the clustering analyses. Taking in account the difficulty to sample individuals, it was suggested primary focus on the strategies to preserve, in an order of priority, umburana-de-cheiro, aroeira and baraúna. The results observed for the tree species indicated that the individuals presented differences according the sampling region, with clusters of individuals being arranged according the sampling region, and that the genetic variability was not found to be equally distributed among all Semi-Arid regions. Strategies should consider a large number of small sites for *in situ* preservation or sampling of a large number of individuals for *ex situ* conservation in a large number of different units of the Northeast Agroecological Zoning to preserve the genetic variability of the studied species.

Keywords: *Myracrodruon urundeuva*, *Amburana cearensis*, *Schinopsis brasiliensis*, MDS, Agroecological Zoning

¹Pesquisador da Embrapa Semi-Árido - Caixa Postal 23 - Petrolina, PE - 56302-970 - E-mail: casantos@cpatsa.embrapa.br

²Pesquisador da Embrapa Semi-Árido - Caixa Postal 23 - Petrolina, PE - 56302-970 - E-mail: viseldo@cpatsa.embrapa.br

³Pesquisadora da Embrapa Semi-Árido - Caixa Postal 23 - Petrolina, PE - 56302-970 - E-mail: kiill@cpatsa.embrapa.br

⁴Bolsista da Embrapa Semi-Árido - Caixa Postal 23 - Petrolina, PE - 56302-970 - E-mail: ighour@cpatsa.embrapa.br

INTRODUÇÃO

A Caatinga, constituída por uma mata seca, caducifolia e espinhosa, é a vegetação que cobre a maior parte do Semi-Árido Brasileiro (SAB). Em trabalhos qualitativos e quantitativos sobre a vegetação da caatinga, foram registradas cerca de 932 espécies arbóreas e arbustivas, sendo 380 endêmicas (UFPE, 2002).

O SAB é formado por aproximadamente 1.000.000 km², abrigando em torno de 24 milhões de pessoas, caracterizando-se como o mais populoso Semi-Árido do mundo (EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2000). A população rural do Nordeste brasileiro é a mais pobre do país, sendo que 50,4% vivem com renda familiar per capita igual ou menor do que um quarto do salário mínimo, a maior proporção verificada em relação às demais regiões do país (INSTITUTO CIDADANIA, 2001).

A pressão sobre os recursos genéticos do bioma caatinga é bastante acentuada, seja devido às condições sócio-econômicas dos habitantes, seja devido à pressão para o estabelecimento de atividades produtivas. O primeiro dano ocorre devido à perda gradativa da variabilidade genética para todas as espécies do bioma, o que poderá resultar num segundo momento no desaparecimento de uma dada espécie sob intensa utilização. Poucos têm sido os trabalhos referentes à coleta, utilização, caracterização, estudos filogenéticos e genéticos, aproveitamento de derivados e pré-melhoramento das espécies endêmicas ou de ocorrência espontânea na região (EMBRAPA, 2000).

Devido às explorações predatórias para uso madeireiro, medicinal, em carpintarias, entre outros, as espécies aroeira (*Myracrodruon urundeuva* M. Allem. - Anacardiaceae), umburana-de-cheiro (*Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C. Smith - Leguminosae) e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl. - Anacardiaceae), estão sob intensa pressão, sendo consideradas como espécies ameaçadas de extinção no SAB (IBAMA, 1992).

A aroeira, além do uso madeireiro, apresenta cascas balsâmicas e hemostáticas, usadas contra as doenças das vias respiratórias e do aparelho urinário. Pelo seu elevado teor de tanino (15%), a casca da aroeira é também usada na indústria de curtume (RIZZINI e MORS, 1976), com crescente uso farmacológico, pois na sua entrecasca foram constatados sete componentes fitoquímicos, dentre eles, duas chalconas diméricas naturais que possuem a propriedade de antiinflamatório e foram denominadas Urundeuveína A e B (VIANA *et al.*, 1995).

A umburana-de-cheiro possui madeira fácil de ser trabalhada na carpintaria, por ser refratária ao ataque de insetos. As sementes desta leguminosa servem para aromatizar as roupas, substituindo o cumaru verdadeiro (*Dipteryx odorata* Willd.), pois por longo tempo conservam o cheiro característico de cumarina. As cascas e as sementes são usadas como antispasmódicas e emenagogas, no tratamento de coqueluches, bronquites e tosse. O pó das sementes torradas é indicado contra as sinusites. O banho com infusão das cascas é usado nas dores reumáticas (AGRA, 1996).

Quanto à baraúna, sua madeira é considerada como especial para obras internas, carpintaria, moendas, esteios, pilões, postes, vigas e dormentes. (ANDRADE-LIMA, 1989). Em levantamento feito por Nascimento (1999), a baraúna se destacou entre as espécies mais frequentes para o consumo de lenha, com 50% de preferência entre os consumidores.

O desenvolvimento dos marcadores de DNA abriu a possibilidade de amplos estudos em recursos genéticos vegetais. Algumas propriedades de tais marcadores que os tornam mais adequados do que os marcadores fenotípicos são: a) tanto as regiões codantes como não codantes de caracteres são analisadas; b) o número de marcadores analisados pode ser da ordem das centenas, enquanto para as variáveis fenotípicas, normalmente, é da ordem das dezenas; c) possibilidade de obter dados em qualquer fase do desenvolvimento da espécie vegetal; e, principalmente, d) independência das influências ambientais (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

O objetivo deste trabalho foi estudar a dispersão da variabilidade genética no SAB para as espécies umburana-de-cheiro, baraúna e aroeira, com base no marcador de DNA tipo 'Random Amplified Polymorphic DNA' (RAPD), para subsidiar estratégias de prospecção e preservação da variabilidade genética destas espécies, seja *in situ* ou *ex situ*.

MATERIAL E MÉTODOS

Identificação das regiões ecogeográficas para amostragens dos indivíduos

O procedimento de amostragem dos indivíduos da aroeira e da baraúna tomou como referência os procedimentos adotados para o umbuzeiro (SANTOS, 1999), resumidamente apresentado a seguir: 1) identificação das áreas de ocorrência geográfica que apresentem grande similaridade edafoclimática e pequena extensão

territorial, dentro das unidades de paisagem do Zoneamento Agroecológico do Nordeste (SILVA *et al.*, 1993), para coleta de tecidos foliares. Para a umburana-de-cheiro foram amostradas áreas independentes das regiões ecogeográficas, ou seja, onde existiam informações da presença de populações naturais; 2) localização com global

positioning system (GPS) dos indivíduos amostrados. Na Figura 1 são apresentadas as áreas de coletas dos indivíduos de aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro. Para as espécies da aroeira e da baraúna foram amostradas para análises cinco plantas, considerando-se a distancia mínima de 100 m de um individuo para o outro.

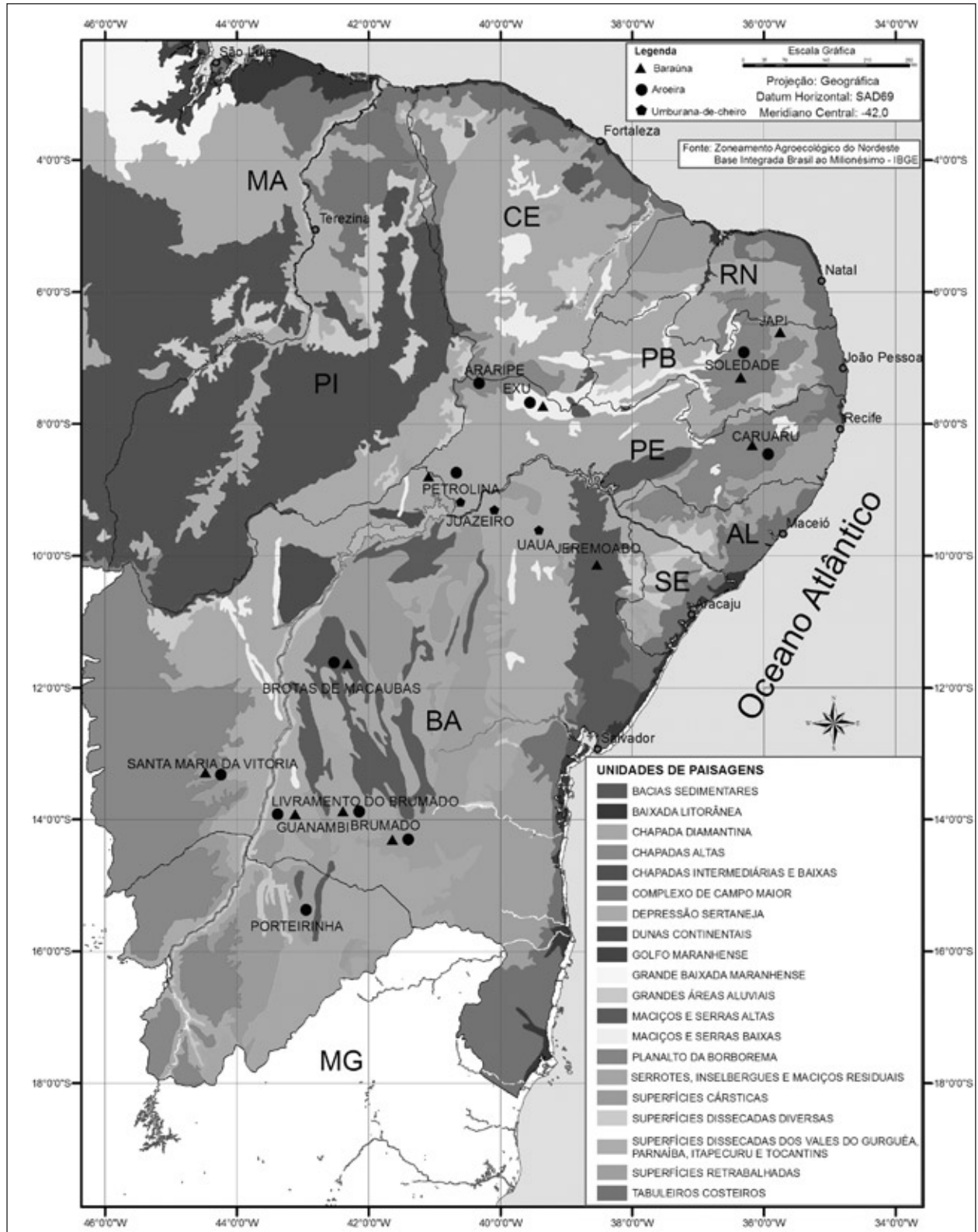


Figura 1. Áreas de amostragens de indivíduos de aroeira (●), baraúna (▲) e umburana-de-cheiro (◆) para estudos de dispersão da variabilidade genética, com base em marcadores tipo RAPD. (Aroeira (●), baraúna (▲) and umburana-de-cheiro (◆) individuals tree sampling areas for genetic variability dispersion studies based on RAPD markers)

Foram amostrados pontos nas seguintes unidades de paisagens do Zoneamento Agroecológico do Nordeste para a aroeira e baraúna: C2 - Chapada Diamantina (Livramento do Brumado, BA), D1 - Planalto da Borborema (Caruaru, PE), D2 - Planalto da Borborema (Soledade, PB), E2 - Superfícies Retrabalhadas (Brumado, BA), F2 - Depressão Sertaneja (Petrolina, PE), F4 - Depressão Sertaneja (Guanambi, BA), J2 - Superfícies cársticas (Santa Maria da Vitória, BA), S1 - Maciços e Serras Altas (Brotas de Macaúbas, BA), T2 - Maciços e Serras Baixas (Exu, PE). Apenas para a aroeira: A1 - Chapadas Altas (Araripe, CE), E1 - Superfícies Retrabalhadas (Porteirinha, MG). Apenas para a baraúna: I1 - Bacias Sedimentares para baraúna (Jeremoabo, BA) e U1 - Serrotes, Inselburges e Maciços residuais (Japi, RN).

Extração de DNA total e reações de RAPD

DNA total, para todas as espécies, foi isolado de folhas verdes e saudáveis, segundo protocolo apresentado por Doyle e Doyle (1990) com pequenas modificações, a seguir descrito: em torno de 0,2 g folhas, mantidas em ultra-freezer (-80 °C), foram maceradas na presença de nitrogênio líquido em almofariz de porcelana. Após a maceração, o pó foi transferido para uma solução extratora de 0,9 mL de CTAB 2% (500 mM Tris-HCL pH 8,0, 1,4 M NaCl, CTAB 2% (p/v), 0,2 % beta-mercaptoethanol, 20 mM de EDTA) e incubado a 65 °C por 50 minutos, com inversão cuidadosa dos tubos a cada 15 minutos. Foi adicionado 0,9 mL de clorofórmio:álcool isoamil (24:1 v/v) para formar uma emulsão que foi microcentrifugada a 8.000 rpm (10.000 g) por 10 min à temperatura ambiente. A solução aquosa foi pipetada adicionando-se 2/3 de álcool isopropanol gelado, em relação ao volume coletado, sendo a solução cuidadosamente misturada, por inversão do microtubo. A solução foi deixada em gelo por pelo menos 10 minutos e em seguida centrifugada a 9.000 rpm (11.500 g) por 10 minutos. A solução foi descartada, as bordas do tubo foram secas com cotonetes e o "pellet" sedimento de DNA total foi colocado para secar a temperatura ambiente. Foi adicionado 120 µL de tampão Tris-EDTA (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 8,0) e a solução de DNA total foi armazenada por 12 horas em geladeira (6 °C). A integridade do DNA total foi avaliada em gel de agarose 1,5 %, sendo estocada a -20 °C, quando as amostras eram consideradas satisfatórias.

As reações da 'polymerase chain reaction'

(PCR) foram realizadas adicionando-se um volume variável de 0,7 a 1,25 µL do DNA total para 11,25 µL do coquetel contendo 6,9 µL de água estéril (ajustado para o volume de DNA total adicionado) + 0,5 µL de dNTPs (2,5 mM) + 1,25 µL da solução tampão da enzima Taq DNA polimerase (fornecido pelo fabricante) + 1,25 µL de MgCl₂ (25 mM, fornecido pelo fabricante da enzima) + 0,1 µL da enzima Taq DNA polimerase (5 unidades/µL) + 1,25 µL do primer RAPD (4 µM). As reações de PCR foram realizadas em termocicladores PTC 100 MJ Research ou Mastercycler Eppendorf. As reações (DNA total + coquetel) foram submetidas: a) dois ciclos de 94 °C por 1 min, 35 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 min, b) 40 ciclos de 94 °C por 15 segundos, 35 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 min e c) um ciclo de 72 °C por 7 min. Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em agarose 1,5 %, na presença da solução tampão de TAE 1X e observado em transiluminador na presença de brometo de etídio. Os géis de agarose foram fotografados e as bandas anotadas com apoio do software Adobe Photoshop.

Amostras de DNA total de cinco indivíduos de cada espécie foram inicialmente avaliadas para identificação dos *primers* (oligonucleotídeos aleatórios) que apresentavam o maior número de bandas polimórficas. Após a identificação dos *primers* (oligonucleotídeos aleatórios) polimórficos, o número total de indivíduos de uma dada espécie foi fenotipado para presença (1) ou ausência (0) das bandas. Quando as falhas foram maiores do que 12% para a umburana-de-cheiro e maiores do que 15% para a aroeira e baraúna as reações de PCR foram repetidas para os indivíduos que não apresentaram amplificação de DNA.

Análises estatísticas

A medida de dissimilaridade de Jaccard [D_{ij} = $1 - S_{ij}$], dado por $S_{ij} = a / (a + b + c)$, onde a é o número de bandas em comum, b é o número de bandas presentes no indivíduo "i" e ausente no indivíduo "j", e c é o número de bandas ausentes no indivíduo "i" e presentes no indivíduo "j" foi adotada para estimar a distância para cada par de indivíduos de uma dada espécie. As matrizes de dissimilaridades, estimadas pelo procedimento DISTANCE do sistema SAS, foram usadas para apresentação em uma escala multidimensional dos indivíduos de cada espécie, adotando-se o procedimento MDS do SAS (WARBURTON e CROSSA, 2002; SAS, 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No geral foi relativamente fácil encontrar indivíduos adultos da baraúna em todas as regiões de amostragem. Para a aroeira as amostragens foram difíceis na região I1, principalmente entre as cidades de Cícero Dantas e Jeremoabo, BA (Figura 1), de vegetação e solos típicos de cerrados, de intenso uso do solo para a agricultura. Na maioria das regiões foram amostrados com certa facilidade indivíduos jovens de aroeira, de baixo porte, ao contrário da baraúna e da umburana-de-cheiro, que possibilitaram a amostragem em indivíduos de plantas adultas e de porte elevado. Para a umburana-de-cheiro a sua ocorrência é mais escassa, tendo sido amostradas apenas cinco regiões, onde a utilização dos solos é menos intensa. Estes fatos sugerem que os esforços para estratégias de preservação devem ser numa escala decrescente, para a umburana-de-cheiro, aroeira e, por último, a baraúna.

Marcas de RAPD e agrupamento para aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro

Na pré-avaliação para identificação dos *primers* (oligonucleotídeos aleatórios) polimórficas observou-se a média de 4,9, 5,8 e 4,4 bandas amplificadas e de 4,5, 4,5 e 3,9 bandas polimórficas para aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro, respectivamente (Tabela 1). Reis e Grattapaglia (2004) observaram média de 3,7 bandas polimórficas em 27 *primers* (oligonucleotídeos aleatórios) em indivíduos de aroeira coletados nas regiões Central e Nordeste do Brasil. Para umburana-de-cheiro foi observada média de 4,1 bandas polimórficas num estudo de 30 *primers* realizado por Catelan *et al.* (2003). Os totais de bandas polimórficas incluídas para as análises de agrupamento foram de 67, 72 e 47 para aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro, respectivamente. Os *primers* (oligonucleotídeos aleatórios) que produziram fragmentos de DNA polimórficos nas três espécies estudadas foram OPA1 e OP8, sendo sugeridos para estudos de diversidades de outras espécies ou para desenvolvimentos de *primers* específicos.

A dispersão dos indivíduos na escala bi-dimensional, segundo a técnica da escala multi-dimensional (MDS), resultou numa ausência de adequação ou de não-ajuste de 0,27 após 35 repetições para a umburana-de-cheiro, de 0,32 após 30 repetições para a aroeira e de 0,29 após 18 repetições para a baraúna. Estes resultados indicam que os dados dos indivíduos de um-

Tabela 1. Número de bandas amplificadas e polimórficas observadas na fenotipagem de indivíduos de aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro com marcadores RAPD. (Number of amplified and polymorphic bands obtained with RAPD primers in individuals of aroeira, baraúna and umburana-de-cheiro)

Primers RAPD	Bandas Amplificadas			Bandas Polimórficas		
	Aroeira	Baraúna	Umburana-de-cheiro	Aroeira	Baraúna	Umburana-de-cheiro
OPA1	11	7	9	6	3	7
OPA10	4	10	3	NA	6	NA
OPA11	1	8	2	NA	7	NA
OPA13	4	4	NA	NA	4	NA
OPA2	5	NA	9	5	NA	3
OPA20	5	NA	NA	4	NA	NA
OPA3	8	6	6	3	4	NA
OPA5	5	6	7	NA	5	4
OPA7	2	4	NA	NA	4	NA
OPA8	8	5	6	7	4	4
OPA9	1	6	2	NA	5	NA
OPAA1	1	7	3	NA	6	NA
OPAA10	NA	NA	6	NA	NA	5
OPAA11	NA	NA	4	NA	NA	4
OPAA14	NA	NA	6	NA	NA	4
OPAA15	NA	NA	3	NA	NA	3
OPAA3	2	5	3	NA	NA	2
OPAA4	6	3	5	NA	3	NA
OPAA6	7	NA	3	2	NA	NA
OPAA7	NA	5	2	NA	2	NA
OPB19	8	NA	3	6	NA	NA
OPBA18	NA	NA	5	NA	NA	4
OPC10	5	6	3	5	5	NA
OPC11	5	6	NA	2	NA	NA
OPC15	4	4	6	NA	NA	4
OPC4	6	NA	3	5	NA	NA
OPC8	4	6	NA	NA	5	NA
OPC9	NA	8	2	NA	5	NA
OPD11	5	NA	4	5	NA	NA
OPD16	6	NA	NA	5	NA	NA
OPD3	4	NA	NA	3	NA	NA
OPD7	6	NA	3	5	NA	NA
OPF13	NA	NA	7	NA	NA	3
OPF2	5	NA	NA	4	NA	NA
OPF20	NA	5	3	NA	4	NA
TOTAL	128	111	118	67	72	47

NA= não avaliado.

burana-de-cheiro foram mais adequados para a dispersão gráfica e que, no geral, os gráficos produzidos para as três espécies refletem boa adequação dos dados de RAPD para a análise da escala multidimensional.

Os trinta indivíduos de umburana-de-cheiro, coletados nas regiões da Baixa Bonita (B) e Baixa do Juazeiro (A), em Juazeiro, BA, Caldeirão da Serra (D) e Caldeirãozinho da Serra (E), em Uauá, BA e Pontal Sul (C), em Petrolina, PE

foram agrupados mantendo uma dispersão que reflete a origem do local de coleta: os indivíduos A5, A2, A1, A3 e A6, de Baixa do Juazeiro, foram plotados no mesmo quadrante do gráfico, sendo o mesmo observado para os indivíduos D1, D4, D3, D5 e D2, para os indivíduos B2, B1, B5, B3 e B4, para os indivíduos E5, E3, E4 e E6 e para os indivíduos C5, C6, C1 e C4 (Figura 2). Discrepâncias foram observadas para os indivíduos B6, E1, A4, E2 e C3, que não apresentaram nenhum agrupamento consistente com os locais de coletas. A maior dissimilaridade ou ausência de consistência no agrupamento foi observada para os indivíduos coletados na região Pontal Sul (C), enquanto as maiores similaridades ou agrupamentos consistentes foram observadas para os indivíduos coletados nas regiões Baixa Bonita (B) e Baixa de Juazeiro (A), sendo que cinco dos seis indivíduos de cada região foram plotados nas mesmas proximidades (Figura 2).

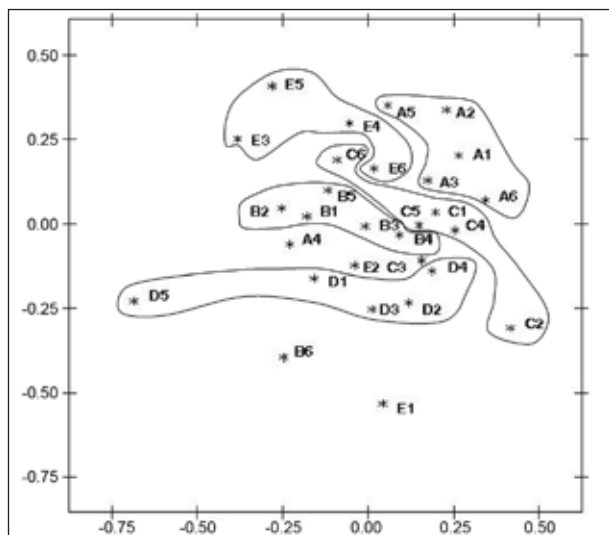


Figura 2. Escala multidimensional de 47 marcas polimórficas de RAPD para 29 indivíduos de umbrurana-de-cheiro coletados nas regiões da Baixa Bonita (BP) e Baixa do Juazeiro (JP), em Juazeiro, BA, Caldeirão da Serra (CS) e Caldeirãozinho (CA), em Uauá, Bahia State and Pontal Sul (PS), in Petrolina, Pernambuco State, Brazil

Os cinquenta e dois indivíduos de aroeira, coletados nas 11 regiões ecogeográficas (Figura 1), foram agrupados mantendo proximidade com indivíduos coletados numa mesma região ecogeográfica, como observado para I14, I15, I12 e I13, para E13, E15, E16 e E11, para F44, F41, F43 e F45, para C25, C23, C22 e C21, ou com indivíduos de regiões ecogeográficas similares, como observado para os indivíduos D24, D21, D12, D13, D14, D11, D22 e D15 ou mes-

mo com locais de coleta próximas em diferentes ecorregiões, como observado para J25, E24, E22, J22, J24, E23, E12, E21, J26 e J21 (Figura 3). A maior dissimilaridade ou indivíduos de uma mesma região sem agrupamento consistente foi observado na ecorregião S1, que pode ser considerada como uma região de transição entre as regiões mais áridas do Nordeste, com regiões de solos e precipitação acima da média da região, e as menores dissimilaridades entre os indivíduos da ecorregião I e E, em torno dos municípios de Jeremoabo, BA e Porteirinha, MG (Figura 3).

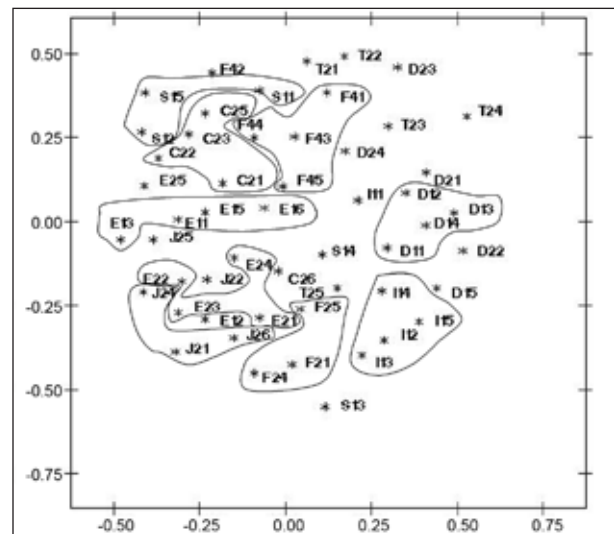


Figura 3. Escala multidimensional de 67 marcas polimórficas de RAPD para 52 indivíduos de aroeira coletados em onze regiões ecogeográficas do semi-árido brasileiro. (Multidimensional scaling of 67 polymorphic RAPD bands for 52 aroeira individuals sampled in 11 eco-geographic regions of the Brazilian Semi-Arid)

O agrupamento dos cinquenta e dois indivíduos de baraúna, coletados nas onze regiões ecogeográficas (Figura 1), apresentaram a maior consistência com a ecorregião de coleta para todas as regiões amostradas (Figura 4). Uma ligeira discrepância foi observada apenas para os indivíduos C23, J21, D11, U13 e D21, que foram plotados ligeiramente distantes dos outros indivíduos da mesma ecorregião de coleta. As menores dissimilaridades foram observadas para os indivíduos das ecorregiões F2, E2, F4 e S1 que apresentaram todos os indivíduos submetidos às análises com RAPD em posições próximas no gráfico bidimensional, sugerindo que os indivíduos destas regiões foram introduzidos recentemente de outras regiões e que as forças evolutivas ainda não tiveram tempo para atuarem. As maiores dissimilaridades podem ser atribuídas aos indivíduos das ecorregiões C2, J2, D1, U1 e D2, numa dimensão menor do que observado para as espécies umbrurana-de-cheiro e aroeira, sugerindo uma maior ação das taxas

de evolução, principalmente mutações, devido a uma anterior ocupação da espécie, quando comparada com as regiões de maior similaridade.

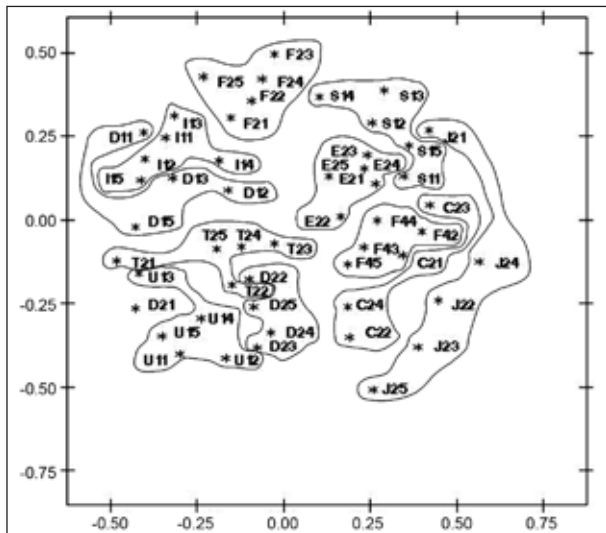


Figura 4. Escala multidimensional de 72 marcas polimórficas de RAPD para 52 indivíduos de baraúna coletados em onze regiões ecogeográficas do semi-árido brasileiro. (Multidimensional scaling of 72 polymorphic RAPD bands for 52 baraúna individuals sampled in 11 eco-geographic regions of the Brazilian Semi-Arid)

Estratégia de preservação e prospecção para aroeira, baraúna e umburana-de-cheiro.

O advento dos marcadores de DNA abriu a possibilidade de amplos estudos da variabilidade de recursos genéticos vegetais numa dimensão nunca antes imaginável, subsidiando a definição de áreas de preservação da variabilidade seja *on farm*, ou *in situ*, ou em áreas de preservação ambiental (APA), bem como nas pesquisas de prospecção e coleta da variabilidade genética de espécies vegetais. Pelo menos duas informações básicas poderão advir, com o emprego de marcadores de DNA, na coleta e prospecção de recursos genéticos: a) definição de áreas de grande variabilidade genética: áreas que apresentem o maior número de indivíduos distribuídos em vários grupos podem ser consideradas como potenciais regiões para serem trabalhadas como regiões de "diversidade primária"; b) estratégias para preservação da variabilidade genética: quando os indivíduos forem agrupados independentemente da região de coleta há indicadores de que umas poucas APAs serão necessárias. Caso ocorra a formação de grupos por região amostrada, uma rede mais complexa de APAs será necessária para preservação *in situ* da variabilidade genética de uma espécie.

Os resultados obtidos para a umburana-de-cheiro, a aroeira e para a baraúna sugerem que os indivíduos apresentam diferenças em função da região de amostragem, com os indivíduos

de uma dada região, apresentando menor dissimilaridade e sendo plotados nas proximidades dos gráficos bidimensionais (Figuras 2, 3 e 4). Sugerem também que a variabilidade genética destas espécies não está uniformemente distribuída por todo o semi-árido brasileiro. Neste cenário é necessário um maior número de áreas para preservação *in situ* da variabilidade genética das espécies estudadas.

Reis e Grattapaglia (2004), trabalhando com dados de RAPD de populações de aroeira, observaram que a maior variabilidade genética foi encontrada dentro de populações coletadas em diferentes áreas. Apesar de não encontrarem agrupamentos específicos para indivíduos coletados numa mesma região, talvez por terem empregado inapropriadamente a técnica dos componentes principais, Reis e Grattapaglia (2004), sugeriram que os esforços para preservação *in situ* da aroeira devem considerar um maior número de áreas distantes entre si e as prospecções de coletas para conservação *ex situ* deveriam considerar amostragens em áreas também distantes entre si. Catelan *et al.* (2003) trabalhando com quatro populações de umburana-de-cheiro não observaram agrupamentos consistentes com as regiões de coletas dos indivíduos, ao contrário do reportado neste trabalho. Para a baraúna não foi encontrado nenhum trabalho visando estudar a distribuição da variabilidade genética com marcadores moleculares.

Como destacado por Reis e Grattapaglia (2004), espera-se de espécies que apresentam comportamento alógamo (que se reproduzem por cruzamentos), como aroeira e baraúna, que têm sido reportadas como dióicas (FREITAS *et al.*, 2004; VIANA *et al.*, 1995), que uma menor variabilidade seja encontrada dentro de áreas do que entre áreas, o que deve ser comprovado em agrupamentos específicos para indivíduos amostrados numa mesma região, como observado neste trabalho para três espécies.

CONCLUSÃO

A variabilidade genética da umburana-de-cheiro, aroeira e baraúna não está uniformemente dispersa por todo o semi-árido brasileiro, mas sim por ecorregiões. Sugerem-se estratégias que resultem no estabelecimento de um maior número de áreas de proteção ambiental para conservação *in situ* ou amostragens de um maior número de indivíduos, em diferentes Unidades de Paisagens para preservação *ex situ*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Fundo Nacional do Meio Ambiente do Ministério do Meio Ambiente pelo apoio financeiro.

Agradecem também aos funcionários da Embrapa Semi-Árido Ângela Katiussia Nascimento dos Santos Coelho, Arlindo Bento de Araujo, Geraldo Freire dos Santos e Pedro José Alves; e aos bolsistas e estagiários Ierla Carla N. dos Santos, Maria Luciene da Silva, Marciane Amorim Rodrigues, Cinthia Pinto Franco e Carla Tatiana de Vasconcelos Dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos.** João Pessoa: Editora União, 1996. 125p.

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas das caatingas.** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989. 243p.

CATELAN, R.C.; NAKASU, E.Y.T.; VIERIA, D.L.M.; CIAMPI, A.Y.; SCARIOT, A. Análise da variabilidade genética de cejereira *Amburana cearensis* utilizando marcadores moleculares RAPD. In: ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 8., 2003, Brasília. **Resumos dos trabalhos.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. p.61.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rochester, v.12, n.1, p.13-15, 1990.

EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. **II Plano Diretor Embrapa Semi-Árido 2000-2003.** Petrolina, 2000. 55p.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética.** Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995. 220p.

FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M; MORAES, M.L.T.; LEMOS, E.G.M. Mating system of a population of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão using FA-FLP molecular marker. **Genetics and molecular biology**, Ribeirão Preto, v.27, n.3, p.425-431, 2004.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção.** Diário Oficial da União, Brasília, 23 de janeiro de 1992, p.869-873, 1992.

INSTITUTO CIDADANIA. **Projeto Fome Zero: uma proposta de política de segurança alimentar para o Brasil.** Ipiranga, 2001.

NASCIMENTO, C.E.S. Avaliação preliminar da utilização de madeira de espécies nativas da caatinga em Petrolina-PE e Juazeiro-BA. In: CONGRESSO NORDESTINO DE ECOLOGIA, 8., 1999, Recife. **Resumos...** Recife: UFPE/SNE, 1999.

REIS, A.M.M.; GRATTAPAGLIA, D. RAPD variation in a germplasm collection of *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), an endangered tropical tree: recommendations for conservation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.51, p.529-538, 2004.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. **Botânica econômica brasileira.** São Paulo: EPU, Editora da Universidade de São Paulo, 1976. 208p.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's Guide, Version 6.** 4.ed. Cary, 1989. 1686p.

SANTOS, C.A.F. Dispersão da variabilidade fenotípica do umbuzeiro no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.9, p.923-930, 1999.

SILVA, F.B.R.; RICHÉ, G.R.; TONNEAU, J.P.; SOUZA NETO, N.C.; BRITO, L.T.; CORREIA, R.C.; CAVALCANTI, A.C.; SILVA, F.H.B.; SILVA, A.B.; SILVA, J.C. **Zoneamento agroecológico do nordeste: diagnóstico do quadro natural e socioeconômico.** Petrolina: Embrapa CPATSA; Recife: Embrapa CNPS, Coordenadoria Regional Nordeste, 1993. 2v.

UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; FUNDAÇÃO DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO; CONSERVATION INTERNATIONAL DO BRASIL; FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS; EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. **Avaliação de ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da caatinga.** Brasília: MMA/SBF, 2002. 36p.

VIANA, G.S.B.; MATOS, F.J.A.; BANDEIRA, A.M.; RAO, V.S. **Aroeira-do-sertão: estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico.** 2.ed. Fortaleza: Editora da UFC, 1995. 164p.

WARBURTON, M; CROSSA, J. **Data analysis in the CIMMYT biotechnology applied center For Fingerprinting and Genetic Diversity Studies.** 2.ed. El Batan: CIMMYT, 2002. 30p.

Recebido em 12/07/2006

Aceito para publicação em 22/06/2007