

CASSIA ALZIRA MENDES DE OLIVEIRA

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam.) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO
TAPACURÁ-PE**

RECIFE

PERNAMBUCO – BRASIL

FEVEREIRO 2005

CASSIA ALZIRA MENDES DE OLIVEIRA

DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam.) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAPACURÁ-PE

Dissertação apresentada à Universidade
Federal Rural de Pernambuco, para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Florestais, Área de Concentração
Silvicultura.

Orientador:

Prof^o Dr. SILMAR GONZAGA MOLICA

Colaboradores:

Prof^o Dr. EDSON FERREIRA DA SILVA

Prof^o Dr. RINALDO LUIZ C. FERREIRA

RECIFE

PERNAMBUCO – BRASIL

FEVEREIRO 2005

Ficha Catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

O48d Oliveira, Cassia Alzira Mendes
Diversidade genética em populações de pau-brasil
(*Caesalpinia echinata* Lam.) na Estação Ecológica do
Tapacurá-PE.
– Cassia Alzira Mendes de Oliveira – 2005.
44f.: il.

Orientador: Silmar Gonzaga Molica
Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Depar-
tamento de Ciência Florestal.
Referência.

CDD 581.15

1. Diversidade genética
 2. *Caesalpinia echinata*
 3. Isoenzimas
 4. Marcadores isoenzimáticos
 5. Genética de populações
 6. Pau-brasil
- I. Molica, Silmar Gonzaga
II. Título

*A meus pais e irmãos, que me apoiaram e
incentivaram todos os dias.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me capacitado a todas as coisas, principalmente para concluir este trabalho;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Curso de Pós-graduação em Ciências Florestais da UFRPE e a Comissão de Apoio à Pesquisa e Ensino Superior (CAPES), pelo oportunidade oferecida para a realização de Pós-graduação;

Ao Prof. Dr. Silmar Gonzaga Molica, pela orientação, amizade, ensinamentos e compreensão durante o curso, sempre me incentivando a prosseguir;

Ao Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva, pela orientação em trabalhos de laboratório, pela oportunidade para trabalho conjunto e pela amizade;

Ao Prof. Dr. Rinaldo Luiz Caraciolo Ferreira, pelo apoio, conselhos e conversas de incentivos;

A Bióloga Dra. Ana Cláudia Badan, pelo incentivo, convivência e amizade nos momentos mais difíceis;

A Prof. Dra. Luiza Suely, pelos ensinamentos;

Ao Dr. Visêlto Ribeiro de Oliveira, pelo apoio constante e pela orientação na análise de dados;

A Karin Von Schmalz – Peixoto, pelas sugestões como examinadora e pela transcrição do resumo para inglês;

Ao Israel e Paulo, da Estação Ecológica do Tapacurá, por permitir o acesso aos fragmentos e auxiliar na coleta de material;

Aos amigos, Ageu Júnior, Deyve André e Mallon Sampaio, pela ajuda na coleta de campo e em atividades de laboratório;

A Empresa CornProducts do Brasil (unidade de Pernambuco), pela cessão de amido de milho (penetrose) utilizado na preparação dos géis para eletroforese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 – Diversidade genética em fitopopulações	3
2.2 – Uso de marcadores bioquímicos no estudo de diversidade genética	5
3 – MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 – Local de estudo	8
3.2 – Coleta, transporte e armazenamento das amostras de folhas	8
3.3 – Extração das enzimas	9
3.4 – Procedimentos eletroforéticos	12
3.5 – Protocolo de análises	15
3.6 – Leitura e interpretação dos zimogramas	17
3.7 – Metodologia Estatística	18
3.7.1 – Estrutura genética F de Wright	18
3.7.2 – Distâncias/identidades genéticas	19
3.7.3 – Divergência genética	19
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1. – Sistemas enzimáticos testados	21
4.2. - Frequências alélicas e genotípicas	27
4.3 – Estatística F de Wright	34
4.4 – Distâncias genéticas entre populações	35
5 – CONCLUSÕES	38
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 – Mapa de localização das árvores de <i>C. echinata</i> na população Toró.	10
2 – Mapa de localização das árvores de <i>C. echinata</i> na população Camucim.	11
3 – Perfis isoenzimáticos típicos e seus respectivos locos dos sistemas EST, PO e ACP para as populações de <i>C. echinata</i> .	23
4 - Perfis isoenzimáticos típicos e seus respectivos locos dos sistemas IDH, GOT e SKDH para as populações de <i>C. echinata</i> .	24
5 - Zimogramas dos perfis isoenzimáticos e seus respectivos locos dos sistemas EST, PO e ACP para as populações de <i>C. echinata</i> .	25
6 - Zimogramas dos perfis isoenzimáticos e seus respectivos locos dos sistemas IDH, GOT e SKDH para as populações de <i>C. echinata</i> .	26
7 - Dendrograma das distâncias genéticas não enviesadas de Nei (1978) das três populações de <i>C. echinata</i> , pelo método UPGMA.	36

LISTA DE TABELAS

	Página
1 – Solução de extração de enzimas das amostras de <i>C. echinata</i> .	12
2 – Sistemas enzimáticos testados em <i>C. echinata</i> .	13
3 – Sistemas tampão eletrodo-gel, utilizados para espécie <i>C. echinata</i> .	14
4 – Sistemas enzimáticos testados, tampões eletrodo-gel e critérios de avaliação da resolução dos géis.	21
5 – Frequências alélicas de doze locos obtidos em três populações de <i>C. echinata</i> na Estação Ecológica do Tapacurá-PE.	28
6 – Resumo dos resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) para desvios considerando o Equilíbrio de Hardy-Weinberg para as três populações estudadas de <i>C. echinata</i> .	30
7 – Índices de diversidade dentro e entre populações de <i>C. echinata</i> , na Estação Ecológica do Tapacurá-PE.	31
8 - Número de heterozigosidade observada e esperada (H_o e H_e), índices de fixação de Wright (f) e teste χ^2 , para os locos da população CAM.	33
9 - Número de heterozigosidade observada e esperada (H_o e H_e), índices de fixação de Wright (f) e teste χ^2 , para os locos da REF.	33
10 - Número de heterozigosidade observada e esperada (H_o e H_e), índices de fixação de Wright (f) e teste χ^2 , para os locos da TOR.	34
11 – Resumo das estatísticas F de Wright em doze locos, de três populações de <i>C. echinata</i> , na Estação Ecológica do Tapacurá-PE, em relação à diversidade dentro (F_{IS}), total (F_{IT}) e entre (F_{ST}) populações	35
12 - Matriz de similaridades (diagonal superior) e distâncias genéticas (diagonal inferior) não enviesadas de Nei (1978), nas três populações de <i>C. echinata</i> , na Estação Ecológica do Tapacurá.	36

OLIVEIRA, CASSIA ALZIRA MENDES. Diversidade genética em populações de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) na Estação Ecológica do Tapacurá - PE. 2005. Orientador: Silmar Gonzaga Molica. Colaboradores: Edson Ferreira da Silva e Rinaldo Luiz Caraciolo Ferreira

RESUMO

Estudos sobre os efeitos da fragmentação florestal na estrutura genética de espécies são essenciais para o planejamento de estratégias de conservação da diversidade. O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) é uma espécie arbórea da Mata Atlântica que sofreu intensa exploração a partir do descobrimento do Brasil, a ponto de ter sido considerada uma espécie com sérios riscos de extinção. Os poucos remanescentes de ocorrência natural são muito fragmentados e com poucos indivíduos, o que pode afetar fortemente a variabilidade genética da espécie. Na Estação Ecológica do Tapacurá (EET), pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco, localizada no município de São Lourenço da Mata – PE, ocorre um raro remanescente com duas populações naturais de *C. echinata*, além de um bosque de reflorestamento. Tais populações têm grande potencial para produção de mudas e vêm sendo usadas para esse fim. Atualmente, há um grande interesse em relação à conservação e repovoamento desta espécie, seja por motivos culturais e sociais ou para a fabricação de instrumentos de cordas de alta qualidade, como violino. Este trabalho teve por objetivo estudar os parâmetros populacionais das duas populações naturais, Mata do Camucim (CAM) e Mata do Toró (TOR), e da população de reflorestamento (REF) da EET que tem servido para reprodução da espécie. Para tanto, utilizou-se eletroforese de isoenzimas em gel horizontal, por meio da análise dos padrões das bandas (presença/ausência) de isoenzimas, para avaliação dos seguintes parâmetros populacionais: frequência alélica, heterozigiosidade, índice de fixação de Wright e divergência genética entre as populações. As análises foram feitas por meio do programa estatístico Biosys-1, considerando 12 locos de nove sistemas isoenzimáticos. As frequências alélicas variaram de 0.050 a 1.00 entre as populações, sendo que o número médio de alelos por loco variou de 2,00 a 2,58. A população CAM apresentou maior heterosigose e a população REF apresentou a maior homozigose. Considerando-se o índice de fixação para cada loco, este variou de -0.905 a 1.000 entre as populações, sendo que TOR

apresentou o maior índice (-0.905), em contraposição à heteroziguidade. Em relação à similaridade entre as populações, CAM e REF foram as mais similares (0,858) em relação CAM e TOR (0,751). Os cuidados com a erosão genética nas populações naturais devem ser maior em relação a TOR e a coleta de sementes visando maior representatividade genética deve ser feita em CAM e TOR, evitando-se REF.

OLIVEIRA, CASSIA ALZIRA MENDES. Genetic diversity in Brazilwood populations (*Caesalpinia echinata* Lam) in the Ecological Station of Tapacurá – PE. 2005 Advisor: Silmar Gonzaga Molica. Collaborators: Edson Ferreira da Silva e Rinaldo Luiz Caraciolo Ferreira

ABSTRACT

Studies on the effect of forest fragmentation in the genetic structure of species are essential for the planning of biodiversity conservation strategies. Brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam) is an arboreal species of the Atlantic rainforest which suffered intense exploitation since the Portuguese colonization, to the extent of being considered highly threatened of extinction due to deforestation. The few naturally occurring forests are highly fragmented and possess few individuals, which may strongly affect the genetic variability of the species. The Ecological Station of Tapacurá (EET), from the Federal Rural University of Pernambuco, Brazil, presents a rare naturally occurring forest of brazilwood and a reforestation area. These populations have an excellent potential for seedling production and have been used lately for this purpose. Nowadays, there is a broad interest in the conservation and reforestation of the species, either for cultural reasons or for the production of high-quality musical instruments, such as violins. The present research aims to study populational genetics parameters in two distinct naturally-occurring populations - Camucim Woods (CAM) and Toró Woods (TOR) – and the reforestation population (REF) of EET. Isozyme patterns were analyzed through presence/absence of bands in horizontal starch gel electrophoresis. The data yielded parameters such as allelic frequency, heterozygosity, Wright's fixation index and genetic divergence between populations. The statistical analysis was made with the help of the computer program Biosys-1, considering 12 loci of nine isozyme systems. Allelic frequencies varied from 0.50 to 1.00 between populations, and the average allele number per loci varied from 2.0 to 2.58. The population CAM presented higher heterozygosity, while REF presented higher homozygosity. The allelic fixation index ranged from -0.905 to 1.0 between populations, with TOR presenting the higher values (-0.905) in relation to heterozygosity. CAM and REF were more genetically similar (0.858) than CAM and TOR (0.751).

1 - INTRODUÇÃO

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) é uma espécie da família Leguminosae e da subfamília Caesalpinioideae, perenifólia ou semicaducifólia, de ocorrência em floresta de mata atlântica litorânea primária, conhecida por vários nomes populares: arabutã, árvore-do-brasil, brasilete, pau-rosado, pau-vermelho e imbirapitinga (Lorenzi, 1992).

Comumente, esta espécie tem de 5 a 15 m de altura e de 15 a 40 cm de DAP, mas pode atingir até 30 m de altura e 100 cm de DAP (diâmetro a 1,30 m do solo) em floresta pluvial. A madeira é vermelha e atualmente preferida para a fabricação de arcos de violino. É uma espécie clímax, que ocupa o estágio médio da floresta, típica de floresta Estacional Semidecidual das Terras Baixas ou Floresta Estacional Caducifólia Costeira (Mata Seca), também ocorrendo em Floresta Ombrófila Densa (Mata Atlântica) e chegando até as Matas das Dunas e de Restinga (Carvalho, 1994). Ainda, segundo Carvalho (1994), há variação na época de floração e frutificação, sendo que no Estado de Pernambuco, esta espécie floresce de dezembro a maio e frutifica de outubro a janeiro e a dispersão das sementes é autocórica.

A espécie é basicamente litorânea, nos estados de RN, PB, PE, AL, SE, BA, ES, MG, RJ, mas ao longo desta grande área de ocorrência, devido à drástica redução das populações pela exploração predatória, há apenas populações remanescentes, que requerem cuidados para que sejam conservados e tenham manejo adequado (Carvalho, 1994; Rondon et al., 2003).

Assim, segundo Lima (2004), os registros botânicos confiáveis da ocorrência natural de pau-brasil ainda não representam um quadro real da atual distribuição da espécie. Contudo, foi possível reconhecer pelo menos três padrões morfológicos, que mostram diferença nas folhas (fórmula foliar, forma de folíolo e tamanho) e na estrutura anatômica da madeira. Ainda, segundo Lima (2004), estudos genéticos recentes apoiaram essas diferenças morfológicas e anatômicas entre as populações, mas até o momento nenhuma subespécie ou variedade foi oficialmente reconhecida.

Na estratégia de conservação do pau-brasil, é importante dispor de informações sobre a atual estrutura genética populacional dos remanescentes protegidos, especialmente quanto à diversidade genética das árvores, pois, atualmente, as poucas reservas existentes são áreas limitadas, com pequeno número de indivíduos. Segundo Melo et al. (2003), essa condição é desfavorável à manutenção da variabilidade, tanto para espécies alógamas como autógamas e de reprodução assexual.

Em Estados do Brasil, como Pernambuco, que contam com um raro remanescente de *C. echinata*, estudos em mata nativa como esse têm uma importância maior (Aguiar e Aoki,

1982). O pau-brasil foi considerado extinto em Pernambuco até 1928, quando os professores João Vasconcelos Sobrinho e Bento Pickel verificaram sua presença na Estação Ecológica do Tapacurá, pertencente a UFRPE, em São Lourenço da Mata (Costa, 1985; Soares, 1984). A partir de esforços do professor Roldão Siqueira Fontes, em 1972, foi iniciada uma campanha nacional em defesa do pau-brasil, visando recuperar a sua memória histórica, realizando-se um plantio na mesma área e com sementes locais, que, há muito, dá suporte ao programa de distribuição de sementes e mudas para todo o Brasil (Instituto Pau-brasil, 2004).

Para dar continuidade a esse programa, é essencial o uso de estratégias de conservação da variabilidade genética, tanto a natural quanto a presente em plantio comemorativo ou econômico da espécie, cuja madeira é muito desejada para produção de instrumentos musicais. Para isso, é preciso adequar a população reprodutiva, usando toda a diversidade genética das poucas árvores remanescentes, para realização de plantios com diversidade genética adequada à sobrevivência da espécie. Esses plantios também podem constituir população-base para melhoramento, permitindo a seleção de matrizes adaptadas ao meio e superiores em sanidade, crescimento, forma do fuste e qualidade da madeira.

Assim, para análise da variabilidade genética entre e dentro das populações realizou-se um estudo por meio de eletroforese de isoenzimas em gel de amido, em dois remanescentes naturais e um bosque de reflorestamento de pau-brasil, da Estação Ecológica do Tapacurá, em São Lourenço da Mata – PE.

