

# DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE *Senna reticulata*

Raquel Alencar de Lima<sup>1</sup>, Maria Teresa Gomes Lopes<sup>1</sup>, Jania Lilia da Silva Bentes<sup>1</sup>,  
Mágnio Sávio Ferreira Valente<sup>1\*</sup>, José Odair Pereira<sup>1</sup>, Graciela Ines Bolzon de Muniz<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil - raquel\_lima32@hotmail.com; mtglopes@hotmail.com;  
jlbentes@ufam.edu.br; magnosavio@yahoo.com.br; jodair@ufam.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, Curitiba, Paraná, Brasil - gbmunize@ufpr.br

Recebido para publicação: 07/10/2014 – Aceito para publicação: 27/04/2015

---

## Resumo

*Senna reticulata* (Willd.) H. S. Irwin & Barneby é uma planta arbórea pioneira em áreas abertas de planícies aluviais da Amazônia e frequentemente usada como planta medicinal. Devido à escassez de informações sobre a diversidade da espécie, caracterizou-se a diversidade genética de populações naturais de *S. reticulata* por meio de marcadores AFLP. Foram coletadas amostras em quatro populações ao longo do trecho do gasoduto Coari-Manaus: Santa Luzia do Baixio, Nossa Senhora de Nazaré, Matrinhã e Esperança II. Foram utilizados quatro *primers* de AFLP, resultando num total de 330 locos polimórficos variando de 76,97% a 92,42% entre as populações. O dendrograma e a análise bayesiana de agrupamento permitiram a visualização de um grupo formado pelas populações de Nossa Senhora de Nazaré e Esperança II e outro agrupamento formado por Santa Luzia do Baixio. A população de Matrinhã foi caracterizada como a composição de genes dos dois grupos. O fluxo gênico médio estimado entre as populações foi de 4,04 e o teste de Mantel indicou baixa correlação ( $r = 0,268$ ) entre as matrizes de distância geográfica e distância genética. De acordo com a análise molecular de variância, a maior diferenciação genética está dentro das populações (82,29%), enquanto a variação interpopulacional foi de 17,71%.

*Palavras-chave:* Diferenciação populacional; marcador AFLP; variabilidade genética.

## Abstract

*Genetic diversity and structure of Senna reticulata.* *S. reticulata* (Willd.) H. S. Irwin & Barneby is a pioneer tree that grows in open areas of the Amazon floodplains and is often used as a medicinal plant species. Due to the lack of information on diversity for this species, this research aimed to characterize the genetic diversity of natural populations of *S. reticulata* by AFLP markers. The samples were collected in four populations along the natural gas pipeline pathway of Coari-Manaus: Santa Luzia do Baixio, Nossa Senhora de Nazaré, Matrinhã and Esperança II. Four AFLP primers were used, resulting in a total of 330 polymorphic loci ranged from 76.97% to 92.42% among populations. The clustering and Bayesian cluster analysis allowed to discriminate a group composed by the Nossa Senhora de Nazaré and Esperança II populations and another group composed by Santa Luzia do Baixio. Matrinhã population was characterized as a gene composition from both groups. Average gene flow among populations was 4.04 and Mantel test showed low correlation ( $r = 0.268$ ) between the pairwise of geographic and genetic distance matrices. According to molecular variance analysis, the most genetic differentiation is within populations (82.29%), while the inter population variation was around 17.71%.

*Keywords:* Population differentiation; AFLP marker; genetic variability.

---

## INTRODUÇÃO

A espécie *Senna reticulata* (Willd.) H. S. Irwin & Barneby, também conhecida como mata-pasto, é uma planta pioneira considerada uma das mais eficientes colonizadoras em áreas abertas nas planícies aluviais da Amazônia, ocorrendo principalmente próxima a rios e em pastos abandonados (PAROLIN, 2005). Possui um valor medicinal importante para a região, no tratamento de obstruções do fígado e no combate ao reumatismo, além de apresentar diferentes antraquinonas, substâncias de interesse para a indústria alimentícia, de corantes e de cosméticos (SANTOS *et al.*, 2008). Devido à preocupação com a geração de energias alternativas para mitigação dos efeitos das mudanças climáticas globais, *S. reticulata*

apresenta-se como potencial fonte energética, incrementando a sua biomassa sob longa exposição a níveis elevados de CO<sub>2</sub> (ARENQUE *et al.*, 2014).

O interesse pelos recursos genéticos vegetais da biodiversidade brasileira, como fonte de novas moléculas e substâncias bioativas, tem alertado para a necessidade de se estudar e conservar esses recursos, diante do risco de erosão genética. A perturbação antrópica e a conseqüente fragmentação das populações pode acarretar uma limitação evolutiva para as espécies (SANTOS *et al.*, 2007). Estudos que comparam a estrutura genética populacional de espécies vegetais e graus de perturbação são fundamentais para o reconhecimento da perda genética real, fornecendo diretrizes para o uso racional dos recursos naturais e para que estratégias de conservação sejam propostas, garantindo a sobrevivência das espécies.

Embora a composição e as propriedades de *S. reticulata* venham aos poucos despertando o interesse da comunidade científica, ainda não se tem informações relevantes na literatura sobre a diversidade genética de populações naturais da espécie. O conhecimento e a organização da variabilidade genética de qualquer espécie vegetal é um passo importante para o extrativismo, para a sua conservação genética e para trabalhos de melhoramento (SETOTAW *et al.*, 2010). É necessário manejar os recursos genéticos de maneira a preservar a máxima variabilidade genética dentro das espécies, porém, sem dados sobre a distribuição dessa variabilidade dentro ou entre populações, decisões importantes sobre o manejo e conservação desses recursos não podem ser tomadas. Estudos de diversidade e estrutura genética em espécies arbustivas e arbóreas são frequentemente relatados na literatura (SANTOS *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2011), reforçando a necessidade desse tipo de estudo para *S. reticulata*.

O desenvolvimento de ferramentas para análises genéticas em nível molecular tornou possível examinar em maiores detalhes a origem evolucionária dos genomas vegetais, assim como acessar o grau de variabilidade genética em grupos de plantas. A técnica AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) tem se destacado em estudos sistemáticos, pois é tecnicamente acessível, reproduzível, rápida e confiável, além de elevado número de locos poder ser analisado por vez, sem haver necessidade de conhecimento prévio sobre o genoma da espécie em estudo (SONSTEBEBO *et al.*, 2007). Assim, marcadores AFLP têm-se mostrado ideal para avaliação da diversidade genética em populações naturais.

Este estudo teve como objetivo analisar a diversidade e estrutura genética de *S. reticulata* por meio de marcador molecular AFLP, colaborando para a minimização das limitações referenciadas acima e visando contribuir para estratégias adequadas de manejo e conservação das populações naturais da espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

A coleta foi realizada em quatro populações naturais de *Senna reticulata* localizadas no trecho do Gasoduto Coari-Manaus: Santa Luzia do Baixio (4°42'43.52" S e 60°4'42.28" W), Matrinchã (4°13'18.88" S e 62°21'56.23" W), Nossa Senhora de Nazaré (4°25'0.09" S e 60°56'4.99" W) e Esperança II (4°0'1.69" S e 63°8'58.78" W), pertencentes aos municípios amazonenses de Iranduba, Codajás, Manacapuru e Coari, respectivamente (Figura 1). A escolha das quatro áreas do estudo é devida à ampla ocorrência da espécie nas áreas de coleta e possibilidade de amostragem adequada para o estudo. Devido a áreas vizinhas a estas sofrerem ação antrópica, faz-se necessário o estudo visando a conservação de espécies nessas regiões. Nas populações amostradas, foram observadas diferenças morfológicas principalmente nas características *número de pares de folíolos por planta, número de sementes por fruto e arquitetura da planta*. Em cada uma das populações, foram amostrados aleatoriamente 30 indivíduos adultos, com uma distância mínima de 100 m entre cada um, sendo que as árvores foram consideradas adultas quando se apresentavam em estágio reprodutivo. O material vegetal coletado foi georreferenciado e acondicionado em sacos de plásticos contendo sílica-gel. Foram confeccionadas exsiccatas e a identificação da planta foi feita no Herbário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), onde está depositada sob número NB 005.

A extração do DNA foi realizada por meio do método CTAB 2% (Cationic *Hexadecyltrimethylammonium Bromide*) (DOYLE; DOYLE, 1987), com proteinase K, seguindo o protocolo otimizado descrito em Ferreira e Grattapaglia (1998). A quantificação foi feita pelo método comparativo em gel de agarose 1%, utilizando marcadores com o peso molecular conhecido (50 e 100 ng). O gel de agarose foi corado com brometo de etídio (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998) e visualizado em transluminador UV.

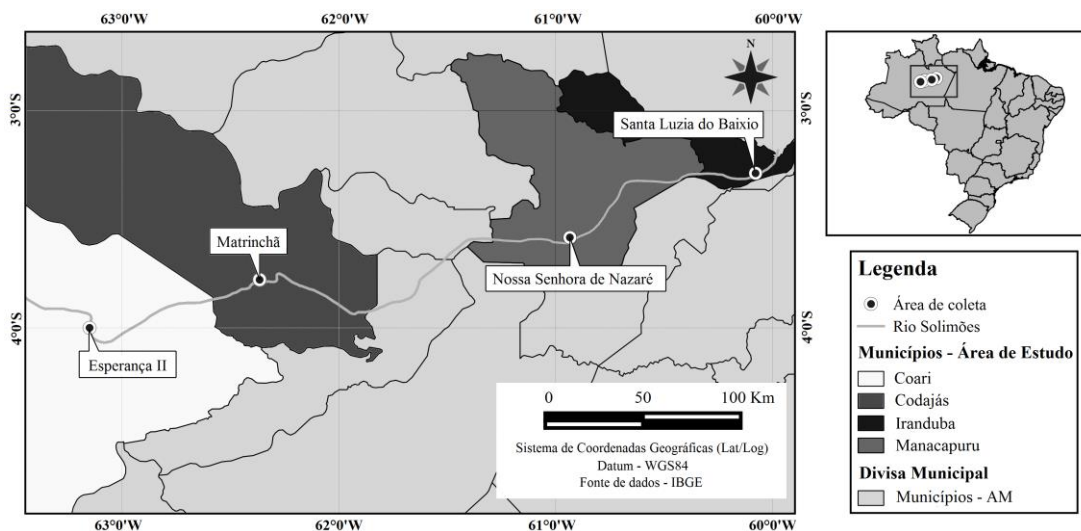


Figura 1. Mapa de localização das áreas de coleta.  
 Figure 1. Location map of the collection areas.

Para as reações de digestão do DNA, foi utilizada a combinação de enzimas de restrição *EcoRI/MseI*. Foram utilizados 200 ng de DNA genômico, 5,0  $\mu\text{L}$  do tampão *One Phor All 10X* (OPA; Amersham), 0,5  $\mu\text{L}$  de solução BSA (albumina de soro bovino) ( $10 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), 0,5  $\mu\text{L}$  da enzima *MseI* (10 unidades/ $\mu\text{L}$ , New England Biolabs) e 0,4  $\mu\text{L}$  da enzima *EcoRI* (12 unidades/ $\mu\text{L}$ , Gibco), em volume final de 50  $\mu\text{L}$ . As reações foram realizadas a 37 °C por três horas, e em seguida as enzimas foram inativadas a 70 °C por 15 minutos.

Nas reações de pré-amplificação, foram usados iniciadores complementares às sequências dos sítios das enzimas de restrição com um nucleotídeo seletivo, com a combinação de iniciadores E+A/M+C. Os produtos da pré-amplificação foram diluídos acrescentando-se 40  $\mu\text{L}$  de água ultrapura. Na amplificação seletiva, foram utilizadas quatro combinações de *primers*: E+AAC/M+CAT, E+ATC/M+CAC, E+AGC/M+CAC, E+AGC/M+CAT. Foram utilizados 2,5  $\mu\text{L}$  do produto da pré-amplificação diluído em termociclador (Techine TC-512).

Para a revelação do gel, usou-se o método de coloração com nitrato de prata segundo o protocolo proposto por Creste *et al.* (2001). Os locos polimórficos foram analisados para presença/ausência do fragmento amplificado. A partir dos fragmentos obtidos, foi construída uma matriz de 0 e 1, em que 1 indica a presença de fragmentos e 0 a ausência.

A partir da matriz binária (presença ou ausência do fragmento), foram calculadas as distâncias genéticas entre populações com base no método de Nei (NEI, 1978). Para a visualização da diferenciação genética entre as populações de *S. reticulada*, foi construído um dendrograma por análise de agrupamentos do tipo UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetical Averages), com o auxílio do software estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013). A adequação da análise do agrupamento aos dados originais foi avaliada pelo coeficiente de correlação cofenética, e a consistência dos agrupamentos foi verificada com base em reamostragem por *bootstrap* feito pelo pacote *pvclust* (SUZUKI; SHIMODAIRA, 2006) do software R. Por meio do pacote *pvclust*, foi calculado o valor de P para cada agrupamento formado.

A abordagem bayesiana implementada no software Structure v.2.4 (PRITCHARD *et al.*, 2000) foi utilizada para revelar a estrutura das populações. O número de iterações utilizadas no *burn-in* e MCMC (Markov Chain Monte Carlo) foram de 100.000 e 500.000, respectivamente. Para as análises, foi considerado o modelo de mistura com frequências correlacionadas, com a incorporação *a priori* das informações sobre locais de amostragem. Foram testados valores de agrupamentos (K) variando de 1 a 7, com vinte repetições idênticas para cada valor de K testado. O número de grupos mais provável foi estimado pelo método *ad hoc*  $\Delta K$  proposto por Evanno *et al.* (2005). Com o valor de K selecionado, foi realizado um consenso das interações realizadas neste cluster através do programa CLUMPP v.1.1.2

(JAKOBSSON; ROSENBERG, 2007), e com o programa Distruct v. 1.1 (ROSENBERG, 2003) foi realizada a visualização gráfica da estrutura populacional.

A distribuição da variação genética entre e dentro das populações foi quantificada pela análise da variância molecular (AMOVA), realizada pelo programa GenALEX v.6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012). Para avaliar a correlação entre a distância geográfica e a diversidade genética das populações de *S. reticulata*, foi feito o teste de Mantel, com 9999 permutações ao acaso. Adicionalmente, foi feita a análise de fluxo gênico ( $Nm$ ) entre as populações, considerando que  $Nm = 0,5(1-G_{st})/G_{st}$ , em que  $G_{st}$  é o coeficiente de diferenciação populacional.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As combinações dos *primers* utilizados para a análise de AFLP revelaram um total de 330 bandas, variando entre 50 e 500 pares de bases. O número total de locos por *primer* variou de 71 a 101 (Tabela 1). As populações de Santa Luzia do Baixio e Esperança II apresentaram o menor e o maior número de locos polimórficos, com 92,42% e 76,97% de polimorfismo, respectivamente. A porcentagem de locos polimórficos tem sido utilizada como medida de diversidade genética em alguns trabalhos com populações naturais e marcadores dominantes (XIA *et al.*, 2007). O uso dos quatro *primers* foi satisfatório para a detecção de polimorfismo, sendo o número de bandas amplificadas e o percentual de polimorfismo encontrado nas populações de *S. reticulata* superior ao observado em outros trabalhos utilizando marcadores AFLP e RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Sharma *et al.* (2011), em estudo realizado com *Pongamia pinnata*, observaram um total de 254 bandas polimórficas a partir de 4 combinações de *primers* AFLP, das quais, 145 (57,1%) eram polimórficos, enquanto que, em avaliação de diversidade genética em cajazeira (*Spondias mombin*), 145 fragmentos foram obtidos a partir de 21 *primers* RAPD, apresentando 79,3% de polimorfismo (LIMA *et al.*, 2011).

Tabela 1. Combinações de oligonucleotídeos e quantidade de locos polimórficos por população.

Table 1. Combinations of primers and number of polymorphic loci per population.

Combinações de oligonucleotídeos	Número de locos	Locos polimórficos			
		Santa Luzia do Baixio	Matrinchã	Nossa Senhora de Nazaré	Esperança II
E+AAC/M+CAT	76	66	75	72	75
E+ATC/M+CAC	82	57	77	63	76
E+AGC/M+CAC	71	60	65	66	63
E+AGC/M+CAT	101	71	83	85	91
Total	330	254 (76,97%)	300 (90,91%)	286 (86,67%)	305 (92,42%)

Lerceteau e Szmidt (1999) relataram uma relação direta entre o número de bases A/T e C/G utilizados nos *primers* com o número total de bandas obtidas. Os autores observaram que, quanto maior o número de bases C/G presentes nos *primers*, menor era o número de bandas obtidas no gel. No entanto, essas observações não foram constatadas no presente trabalho, com o número de bandas amplificadas para *S. reticulata* não sendo explicado pela composição nucleotídica em relação à quantidade de A/T e C/G.

O dendrograma obtido com base na distância genética de Nei sugere moderada diferenciação genética entre as populações em estudo, embora os indivíduos próximos geograficamente tendam a apresentar menor distância genética em contraste a indivíduos localizados mais distantes (Figura 2). De acordo com os valores de P, verifica-se maior probabilidade da formação de um grupo formado somente com as populações de Nossa Senhora de Nazaré e Esperança II. Contudo, o coeficiente de correlação cofenética apresentou um valor de 0,5996, indicando que o dendrograma gerado não apresentou um bom ajuste (representação simplificada da matriz de distâncias).

A distância genética média entre as populações de *S. reticulata* foi de 0,0492. As populações que apresentaram maior similaridade foram Nossa Senhora de Nazaré e Esperança II, tendo uma distância genética de 0,0133. Já a população de Santa Luzia do Baixio foi a mais divergente entre as quatro populações, possivelmente devido à localização geográfica, sendo a comunidade mais distante das demais.

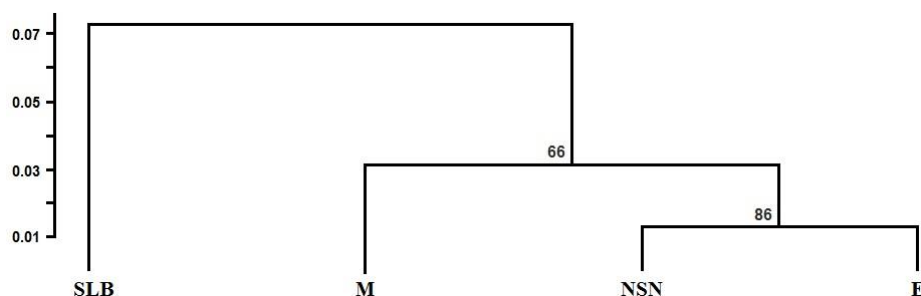


Figura 2. Dendrograma obtido a partir da distância genética de Nei e método UPGMA para populações de *S. reticulata*. Coeficiente de correlação cofenética:  $r = 0,5996$ . Os números acima de cada nó do dendrograma correspondem aos valores de P para formação de agrupamentos com base em amostragem por *bootstrap* feito pelo pacote *pvclust* do software R. SLB: Santa Luzia do Baixo; M: Matrinchã; NSN: Nossa Senhora de Nazaré; E: Esperança II.

Figure 2. Dendrogram obtained from the genetic distance of Nei and UPGMA method for populations of *S. reticulata*. Cophenetic correlation coefficient:  $r = 0.5996$ . The numbers above each dendrogram node correspond to the P values for cluster training based on sample *bootstrap* made by *pvclust* software package. SLB: Santa Luzia do Baixo; M: Matrinchã; NSN: Nossa Senhora de Nazaré; E: Esperança II.

Embora o teste de Mantel indique uma associação positiva e significativa entre as matrizes de distância geográfica e distância genética, a correlação se mostrou baixa ( $r = 0,268$ ;  $P = 0,001$ ). Desse modo, podemos concluir que a distância geográfica tem influência na heterogeneidade genética das populações, embora não seja um fator determinante para a diferenciação genética.

Partindo do princípio de que o fluxo gênico pode ser estimado a partir de valores de  $F_{st}$  ou  $G_{st}$  e reconhecendo que todos os pressupostos necessários para o cálculo muitas vezes não são cumpridos (WHITLOCK; MCCAULEY, 1999), quando todas as populações foram consideradas como um grupo de populações, o fluxo gênico médio estimado entre elas foi de  $Nm = 4,04$ . Isso é da mesma ordem de grandeza que as estimativas de Adin *et al.* (2004) para pupunheira ( $Nm = 4,8$ ) a partir de marcadores AFLP e em populações interconectadas por via fluvial. Para as populações de *S. reticulata* avaliadas neste estudo, é razoável considerar que um maior fluxo gênico pode ter sido também influenciado pela dispersão das sementes através das águas, uma vez que todas as populações amostradas estão interconectadas pelo rio Solimões.

Para determinar os padrões genéticos de diferenciação e subestruturação populacional, foi feita a análise bayesiana pelo software Structure e, de acordo com o método  $\Delta K$  descrito por Evanno *et al.* (2005), o número mais provável de agrupamentos foi  $K = 2$  (Figura 3). A visualização gráfica da estrutura populacional permitiu identificar facilmente um grupo formado pelas populações de Nossa Senhora de Nazaré e Esperança II e outro grupo formado pela maioria dos acessos de Santa Luzia do Baixo. Porém, ao observar os acessos de Matrinchã, houve mistura de materiais genéticos dos dois grupos, o que indicaria que esse é um ponto de transição (ecótono) entre essas localidades e/ou que essa é uma região de intenso intercâmbio de material genético entre as demais localidades. O genoma de Matrinchã também pode ser entendido como um composto obtido do cruzamento entre populações parentais com genoma contrastante para grande parte dos locos considerados (VIANA *et al.*, 2013).

A quantidade de variação genética obtida pela análise de variância molecular (AMOVA) (Tabela 2) mostrou que 82,29% da variabilidade genética encontra-se entre os indivíduos dentro das populações e 17,71% entre as populações analisadas. Os resultados da diversidade genética obtidos neste trabalho concordam com diversos estudos realizados em espécies arbóreas utilizando marcadores moleculares, que relataram que a maior diversidade genética encontra-se dentro de populações (GOMES *et al.*, 2011).

Embora a variabilidade genética dentro das populações seja maior, o nível de divergência genética entre elas é significativo, e esse efeito deve ser considerado nos programas de manejo e conservação da espécie. A variabilidade genética é o meio pelo qual as espécies se mantêm ao longo do tempo, permitindo a sua adaptação evolutiva em decorrência das mudanças ambientais. Esse

conhecimento nas populações é fundamental para a aplicação de técnicas de manejo florestal e para o estabelecimento de ações de conservação *ex situ*, *in situ* e *on farm*.

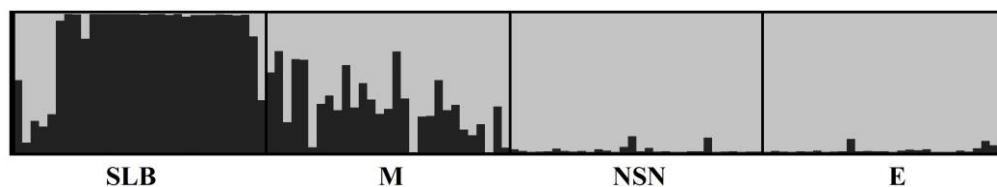


Figura 3. Estrutura populacional empregando o software Structure a partir de 120 indivíduos amostrados de quatro populações de *S. reticulata*, considerando o número de agrupamentos igual a dois (K: 2) e o modelo de análises de mistura com frequências correlacionadas. SLB: Santa Luzia do Baixo; M: Matrinchã; NSN: Nossa Senhora de Nazaré; E: Esperança II.

Figure 3. Population structure using the Structure software, from 120 individuals sampled of four populations of *S. reticulata*, considering the number of cluster equal two (K: 2) and admixture model with correlated allelic frequencies. SLB: Santa Luzia do Baixo; M: Matrinchã; NSN: Nossa Senhora de Nazaré; E: Esperança II.

Tabela 2. Variação genética obtida pela análise de variância molecular entre e dentro de populações de *S. reticulata*.

Table 2. Genetic variation obtained by analysis of molecular variance between and within populations of *S. reticulata*.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Componente de variância	% da variação
Entre populações	3	1121,0986	373,6995	10,9444**	17,71
Dentro de populações	114	5799,2149	50,8703	50,8703**	82,29
Total	117	6920,3136	59,1480		

$F_{st} = 0,1771$

\*\* : significativo a 1% de probabilidade.

Um método de conservação em campo de *S. reticulata*, assim como de outras espécies perenes nativas da região amazônica, é através da conservação participativa *in situ* nas áreas em que a espécie é utilizada pelas comunidades para extrativismo. Devido à distribuição da diversidade genética ser encontrada predominantemente dentro das populações em estudo, a sua conservação *ex situ* deve ser feita através de amostras representativas de todas as populações, para a conservação genética da espécie.

Uma vez que há escassez de relatos na literatura sobre trabalhos de diversidade genética para *S. reticulata*, estes resultados contribuem para o conhecimento genético da espécie, fornecendo subsídios para futuros programas de melhoramento genético e para programas de conservação e manejo florestal.

## CONCLUSÃO

- A distribuição da diversidade genética nas populações estudadas de *S. reticulata* é maior dentro das populações do que entre elas, sendo necessário obter amostras representativas de todas as populações para a conservação genética da espécie.

## REFERÊNCIAS

ADIN, A.; WEBER, J. C.; MONTES, C. S.; VIDAURRE, H.; VOSMAN, B.; SMULDERS, M. J. M. Genetic differentiation and trade among populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in the Peruvian Amazon - implications for genetic resource management. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, n. 8, p. 1564 - 1573, 2004.

ARENQUE, B. C.; GRANDIS, A.; POCIUS, O.; DE SOUZA, A. P.; BUCKERIDGE, M. S. Responses of *Senna reticulata*, a legume tree from the Amazonian floodplains, to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration and waterlogging. **Trees**, v. 28, n. 4, p. 1021 - 1034, 2014.

- CRESTE, S.; NETO, A. T.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, n. 4, p. 299 - 306, 2001.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. I. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13 - 15, 1987.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611 - 2620, 2005.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3. ed. Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.
- GOMES, L. R. P.; LOPES, M. T. G.; BENTES, J. L. D.; BARROS, W. S.; NETO, P. D. C.; CONTIM, L. A. S. Genetic diversity in natural populations of Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, n. 3, p. 216 - 223, 2011.
- 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, n. 14, p. 1801 - 1806, 2007.
- LERCETEAU, E.; SZMIDT, A. E. Properties of AFLP markers in inheritance and genetic diversity studies of *Pinus sylvestris* L. **Heredity**, v. 82, n. 3, p. 252 - 260, 1999.
- LIMA, A. T.; DE SOUZA, V. A.; GOMES, R. L.; LIMA, P. S. Molecular characterization of caja, *Spondias mombin* (Anacardiaceae), by RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 2893 - 2904, 2011.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583 - 590, 1978.
- PAROLIN, P. *Senna reticulata* (Willd.) H. S. Irwin & Barneby (Fabaceae) "Matapasto", árbol pionero en las planicies inundables amazónicas. **Ecología Aplicada**, v. 4, n. 1-2, p. 41 - 46, 2005.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537 - 2539, 2012.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945 - 959, 2000.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-900051-07-0, URL <<http://www.R-project.org>>. 2013.
- ROSENBERG, N. A. Distruct: a program for the graphical display of population structure. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 1, p. 137 - 138, 2003.
- SANTOS, C.; OLIVEIRA, V.; KIILL, L. H. P.; SÁ, I. I. S. Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semiárido brasileiro. **Scientia Forestalis**, v. 74, p. 37 - 44, 2007.
- SANTOS, R. N. D.; SILVA, M. G. D. V.; BRAZ FILHO, R. Constituintes químicos do caule de *Senna reticulata* Willd. (Leguminosae): Chemical constituents isolated from the wood of *Senna reticulata* Willd. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1979 - 1981, 2008.
- SETOTAW, T. A.; DIAS, L. D. S.; MISSIO, R. F. Genetic divergence among barley accessions from Ethiopia. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 116 - 123, 2010.
- SHARMA, S. S.; NEGI, M. S.; SINHA, P.; KUMAR, K.; TRIPATHI, S. B. Assessment of genetic diversity of biodiesel species *Pongamia pinnata* accessions using AFLP and three endonuclease-AFLP. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 29, n. 1, p. 12 - 18, 2011.
- SONSTEBO, J. H.; BORGSTROM, R.; HEUN, M. A comparison of AFLPs and microsatellites to identify the population structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) populations from Hardangervidda, Norway. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 7, p. 1427 - 1438, 2007.

SUZUKI, R.; SHIMODAIRA, H. Pvclost: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. **Bioinformatics**, v. 22, n. 12, p. 1540 - 1542, 2006.

VIANA, J. M. S.; VALENTE, M. S. F.; SILVA, F. F.; MUNDIM, G. B.; PAES, G. P. Efficacy of population structure analysis with breeding populations and inbred lines. **Genetica (Dordrecht)**, v. 141, n. 7-9, p. 389 - 399, 2013.

WHITLOCK, M. C., MCCAULEY, D. E. Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{st} \approx 1/(4Nm + 1)$ . **Heredity**, v. 82, p. 117 - 125, 1999.

XIA, T.; CHEN, S.; CHEN, S.; ZHANG, D.; ZHANG, D.; GAO, Q.; GE, X. ISSR analysis of genetic diversity of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Rhodiola chrysanthemifolia* (Crassulaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 4, p. 209 - 214, 2007.