

Estrutura genética de populações de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (guapuruvu) por meio de marcadores RAPDGenetic structure of *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (guapuruvu) populations by RAPD markersJuliana Müller Freire¹, Fátima Conceição Marquez Piña-Rodrigues², Edilberto Rosendo de Lima³, Sérgio Ricardo Cardoso Sodré⁴, Ronan Xavier Corrêa⁵**Resumo**

Schizolobium parahyba (Vell.) Blake é uma espécie pioneira de rápido crescimento da família Leguminosae, de grande importância em projetos de revegetação e paisagismo. Com o objetivo de determinar o nível e a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações desta espécie, foram estudados 74 indivíduos de cinco populações, localizadas na região litorânea e serrana do sul do estado do Rio de Janeiro. A análise genética foi realizada com marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), utilizando-se cinco primers altamente polimórficos que produziram 32 marcadores dominantes, os quais foram utilizados para medir a diversidade gênica entre e dentro das populações. A proporção de locos polimórficos foi de 97%, valor considerado compatível para uma espécie de ampla distribuição geográfica. Da variação genética total observada, 89% ocorreu dentro das populações e 11% entre as populações. Não foi encontrada correlação significativa entre distância genética e geográfica ($r=0,036$), evidenciando a ausência de estruturação espacial nestas populações.

Palavras-chave: Variabilidade genética, Estrutura genética, Conservação genética, Marcador molecular, Espécies florestais

Abstract

Schizolobium parahyba (Vell.) Blake is a fast growing pioneer Leguminosae species, important to reforestation programs. The aim of this work was to estimate the level and distribution of genetic variation within and among five *Schizolobium parahyba* (guapuruvu) populations, located at coastal and mountain regions in the south of Rio de Janeiro State. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers, with five primers highly polymorphic showing 32 dominant markers, were used to estimate genetic diversity within and among populations. The proportion of polymorphism loci (P) was 97%, as expected for wide distributed specie. From the total genetic diversity, 89% was within populations and 11% among populations. Correlations among genetic and geographic distance were not found, indicating the absence of spatial structure in these populations.

Keywords: Genetic variability, Genetic structure, Genetic conservation, Molecular markers, forest species

INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica vem sofrendo acelerado processo de fragmentação nos últimos séculos, tendo como implicações diretas a redução indiscriminada de áreas com florestas, extinção de espécies e populações, e perda da variabilidade genética das espécies remanescentes (DEAN, 1996; YOUNG *et al.*, 1996). No estado do Rio

de Janeiro, da área de 97% originalmente coberta por Mata Atlântica, restaram apenas 16,73%. Embora a taxa de desmatamento tenha diminuído no período de 1995-2000 (0,51%) em relação a 1990-1995 (3,31%) e a 1985-1990 (0,70%), ainda são perdidos mais de 3.500 hectares de floresta a cada cinco anos (SOS MATA ATLÂNTICA, 2001). Diversas iniciativas de recuperação de áreas degradadas têm sido realiza-

¹Mestre em Ciências Ambientais e Florestais pelo Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Gerente Executiva da Rede Mata Atlântica de Sementes Florestais dos estados do RJ-ES-BA (RIOESBA) - Ladeira dos Tabajaras, 126 - Bloco 2 - 1504 - Copacabana - Rio de Janeiro, RJ - 22031-110 - E-mail: julianafreire@uol.com.br

²Professora Associada do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal de São Carlos - Av. Darci Carvalho Daffener, 200 - Caixa Postal 3031 - Alto da Boa Vista - Sorocaba, SP - 18043-970 - E-mail: fpina@ufscar.br

³Técnico em Colheita de Sementes da Coordenadoria de Recuperação Ambiental da Secretaria Municipal de Meio Ambiente da Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro.

⁴Pesquisador do Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro - Rua Pacheco Leão, 915 - Horto - Rio de Janeiro, RJ - 22460-030 - E-mail: sergio@jbrj.gov.br

⁵Professor Titular do Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Santa Cruz - Rodovia Ilhéus Itabuna - km 16 - Salobrinho - Ilhéus, BA - 45662-000 - E-mail: ronanxc@uesc.br

das, mas poucas atentam para a qualidade física, fisiológica e genética das sementes e mudas, tendo como conseqüência a baixa diversidade genética nas áreas replantadas (ROZZA e MAEDA, 2003). A curto prazo, a perda de variabilidade genética pode reduzir a aptidão individual da espécie, inviabilizando o remanescente populacional com baixo número de indivíduos. A longo prazo pode limitar a habilidade das espécies a responder às mudanças devidas à ação de forças seletivas (ELLSTRAND e ELAM, 1993).

Tem crescido o número de estudos de variação e diferenciação populacional intraespecífica e de quantificação da perda desta variação em espécies tropicais, além disso o tema é importante para o campo da biodiversidade e sua aplicação no manejo, conservação e utilização sustentável dos recursos naturais (KAGEYAMA e GANDARA, 1998; LEWINSOHN, 2002). O conhecimento da quantidade e da distribuição da variabilidade genética nas populações naturais é um pré-requisito fundamental para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética e recuperação de áreas degradadas (FRANKEL e SOULÉ, 1981). Dentre as alternativas para se determinar estes parâmetros destaca-se a utilização de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Esta técnica apresenta como vantagens a possibilidade de realizar uma ampla amostragem do genoma, a simplicidade, rapidez, baixo custo, e como desvantagem o caráter dominante e problemas de reprodutibilidade dos resultados, este último quando executada sob diferentes condições tais como qualidade e quantidade de DNA, marcas de enzima e de termociclador (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; JONES *et al.*, 1997). Para ecossistemas com alta diversidade, tais como as florestas tropicais, onde é praticamente impossível estudar todas as espé-

cies e populações do ponto de vista genético, a escolha das espécies passa a ter cada vez mais importância, principalmente para interpretar a comunidade vegetal e extrapolar os resultados para espécies com características semelhantes (KAGEYAMA *et al.*, 2003).

Dentro deste contexto, *Schizolobium parahyba* ou guapuruvu, é uma espécie interessante para estudos genéticos populacionais, por ser uma espécie pioneira, de rápido crescimento, de ampla distribuição geográfica, com dispersão anemocórica e polinização por abelhas, podendo, portanto, servir de modelo para outras espécies com as mesmas características. Ainda, não existem estudos descrevendo os níveis e a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de suas populações na região sudeste do Brasil. Assim, o presente trabalho teve como objetivos estimar o padrão de distribuição da variação genética entre e dentro de cinco populações de *S. parahyba* e avaliar a estruturação espacial das populações, com base em marcadores RAPD.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 74 árvores matrizes, distribuídas em cinco populações de *S. parahyba* situadas no estado do Rio de Janeiro: Paraty, Ilha Grande, Itaguaí e Rio de Janeiro na região litorânea e Miguel Pereira na região serrana, abrangendo as latitudes de 22° 28' 54'' S a 23° 13' 22'' S, e as longitudes de 43° 29' 15'' W a 44° 44' 04'' W (Figura 1). As distâncias entre as populações variaram de 64 km a 350 km, com diferença na altitude, no clima e nos solos em cada local (Tabela 1). O número de indivíduos amostrados em cada população variou de oito a 27, sendo encontrados em unidades de conservação, bordas de florestas, pastos, bananais e em alguns casos, em remanescentes de vegetação inseridos em área urbana (Paraty).

Tabela 1. Dados ecogeográficos das áreas de coleta de *S. parahyba* no estado do Rio de Janeiro. (Ecogeographic data of the sampled areas of natural occurrence *S. parahyba* in Rio de Janeiro State).

Áreas de Coleta	Latitude	Longitude	Nº de matrizes	Altitude (m)	Solo ¹	Classificação climática ²
Ilha Grande	23°06'00''	44°15'50''	12	0 a 300	Cambissolo	Quente super úmido sub seco (Aw)
Paraty	23°13'22''	44°44'04''	27	0 a 100	Cambissolo	Quente super úmido sem seca (Af)
Itaguaí	22°50'49''	43°45'30''	8	0 a 100	Cambissolo	Quente super úmido sub seco (Aw)
Miguel Pereira	22°28'54''	43°29'15''	13	700 a 800	Latossolo vermelho e amarelo	Sub quente semi úmido (Am)
Rio de Janeiro	22°55'31''	43°39'22''	14	0 a 300	Planossolo	Quente e úmido (Cwa)

¹EMBRAPA, 1997; ²Köppen, 1931

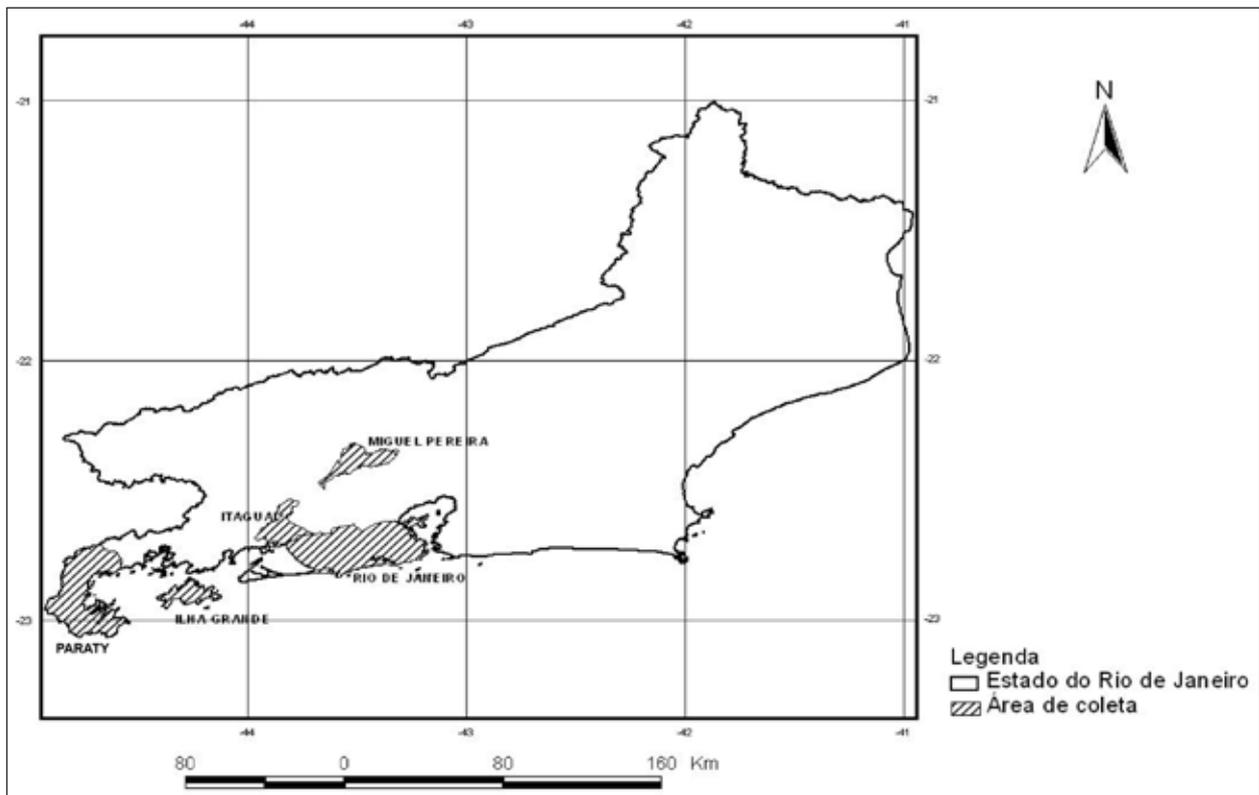


Figura 1. Localização das populações de *S. parahyba* amostradas para análise genética na região serrana e litorânea do estado do Rio de Janeiro. (Localization of *S. parahyba* populations sampled for genetic analysis in the mountain and coastal region of Rio de Janeiro State).

Em cada região foram cadastrados, georreferenciados e avaliados indivíduos adultos de *S. parahyba*, com circunferência a altura do peito (CAP) maior que 50 cm. A única exceção ocorreu em Ilha Grande, onde praticamente todos os indivíduos adultos de *S. parahyba* morreram devido a causas ainda não identificadas, sendo efetuada amostragem apenas de indivíduos jovens ou em regeneração, com $30 \text{ cm} < \text{CAP} < 50 \text{ cm}$.

Amostras de folhas foram coletadas em cada árvore matriz, sendo em seguida armazenadas em sacos plásticos contendo sílica-gel e encaminhadas ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus (BA), para realização da extração e amplificação do DNA. O procedimento de extração do DNA de folhas foi realizado pelo método de CTAB (DOYLE e DOYLE, 1990), modificado a partir de protocolos previamente estabelecidos para outras plantas (CORRÊA *et al.*, 1999). Foram usados 100 mg de tecido do limbo foliar, 700 μL de tampão CTAB 2%, 600 μL de clorofórmico-álcool isoamílico 24:1, 400 μL isopropanol, Tris-HCl 10 mmol/L, EDTA, pH 8,0 a 1 mmol/L, RNase 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, NaCl 1,4 mol/L, 1 g Polyvinylpyrrolidone (PVP 40), mercaptoetanol 0,2%. A quantificação do DNA foi efetuada através da medição das absorvâncias das purinas e fenilalanina no espectrofotômetro e o cálculo da sua concentração, pela fórmula:

$$C = (A260 \times 50 \times f) / 1000 = \mu\text{g DNA} / \mu\text{L}$$

em que,

A260 = absorvância da amostra

f = fator de diluição (=100).

Para amplificação foram usados 4,32 μL H_2O , 1,30 μL tampão 10 x [tampão Biotools DNA polymerase: 75 mM Tris HCl, pH 9,0, 2 mM MgCl_2 , 50 mM KCl, 20 mM $[(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4]$, 1,04 μL dNTP (2,5 μM), 1,3 μL primer (4mM), 1,04 BSA (2,5 μM), 1,0 μL Taq (1U/ μL), e 3,0 μL DNA (10ng/ μL).

As reações foram realizadas no termociclador (Perkin Elmer-Cetus 9600), programado para 2 ciclos de 94 °C por 2', 35 °C por 1', 72 °C por 1', 2 ciclos de 94 °C por 1', 35 °C por 30'', 72 °C por 1', seguido de 40 ciclos a 94 °C por 15'', 35 °C por 30'' e 72 °C por 1', com incubação final a 72 °C por 5'. Amostras de 2 μL de DNA, 2 μL de corante e 5 μL de água ultra-pura foram utilizadas para cada indivíduo. Os produtos das amplificações foram separados por eletroforese em géis de agarose 1,2%, corados com brometo de etídio e fotografados. Para fins comparativos foram utilizadas soluções de DNA padrão de 200 pb, 100 pb e 50 pb. Os padrões de bandas heteromórficas foram transformados em planilhas do programa Excel para análises genético-estatísticas.

Com auxílio do software Popgene 1.31 (YEH *et al.*, 1997), foi realizada análise de diversidade gênica das populações, estimando-se o número médio de alelos por loco (A), número médio de alelos efetivos por loco (A_e), diversidade gênica de Nei (1973), H_e , porcentagem de locos polimórficos (P) para cada população e para o conjunto de populações.

A distribuição da diversidade genética entre e dentro das populações foi obtida por análise de variância molecular hierárquica - AMOVA (EX-COFFIER *et al.*, 1992), descrita por Huff *et al.* (1993), para cálculo da divergência genética entre populações (F_{ST}). Para essa análise foi usado o programa Arlequin (SCHNEIDER *et al.*, 1997). A estrutura das populações para cada marcador foi avaliada pelo teste de qui-quadrado (χ^2) (ZAR, 1999). Para avaliar graficamente a relação genética entre as populações foi construído um dendrograma com base nas distâncias genéticas de Nei (1978) entre populações, utilizando-se o programa TPGA (Tools for Population Genetic Analyses). O padrão de variação espacial das populações foi analisado usando a estimativa do coeficiente de correlação entre a matriz de distância de Nei (1978) e a matriz de distâncias geográficas entre as populações estudadas. O dendrograma e o coeficiente de correlação foram estimados usando o programa Arlequin (SCHNEIDER *et al.*, 1997). A distância geográfica foi obtida a partir das coordenadas geográficas originais utilizando o Programa Arcview GIS 3.2 (ESRI, 2000).

RESULTADOS

A análise de RAPD dos 74 indivíduos, utilizando cinco primers, possibilitou a identificação de 32 bandas para o estudo (Tabela 2).

Tabela 2. Relação do número de bandas e da seqüência de nucleotídeos para cada primer obtidos na análise genética de indivíduos de *S. parahyba* situados no estado do Rio de Janeiro. (Number of bands and nucleotides sequences of each primer utilized for the genetic individual's analysis of *S. parahyba* in the state of Rio de Janeiro).

Oligonucleotídeo	Seqüência 5'→3'	Número de bandas
OPI11	ACATGCCGTG	4
OPP14	CCAGCCGAAC'	6
OPQ04	AGTGCGCTGA'	6
OPAX15	TGATTGCGGG	8
OPAW18	GAACACTGGG'	8
TOTAL		32

Do total de bandas estudadas, 31, correspondente a 96.9%, apresentaram polimorfismo (Tabela 3). Somente a banda 26 não apresentou polimorfismo, ocorrendo em todos os indivíduos

estudados. Cerca de 20% das freqüências alélicas foram idênticas entre duas ou mais populações. Foram encontradas quatro bandas (12, 23, 28, 29) que não estavam presentes em pelo menos uma das populações. A análise das freqüências de alelos das populações testadas pelo teste qui-quadrado (χ^2) indicou que, do total de 32 bandas, 10 delas diferiram significativamente entre as populações, cinco diferiram com baixa significância, e 17 não diferiram estatisticamente. Observa-se por este resultado uma estrutura genética com muitos locos polimórficos comuns entre as populações, com alta variabilidade dentro das populações (Tabela 3). Zimback *et al.* (2004) estudando 72 bandas de ocorrência em três populações de *Trichilia pallida* observaram que 27 bandas diferiram significativamente entre as populações, 33 não diferiram estatisticamente e 12 diferiram com baixa significância, indicando grande semelhança entre as populações estudadas.

Comparando os 74 acessos aos pares na matriz total de coeficientes de dissimilaridade genética, verificou-se que houve diversidade genética entre os materiais, com coeficiente de diversidade médio de 0,176, tendo os materiais mais divergentes coeficientes de 0,450 e os menos divergentes, valores iguais a zero, indicando a coleta de indivíduos idênticos geneticamente.

A proporção de locos polimórficos variou de 65,6% para Itaguaí a 87,5% para Paraty (Tabela 4). O número de alelos observados variou de 1,65 para Itaguaí a 1,87 em Paraty, podendo estar relacionado ao número amostral de cada população, uma vez que amostras grandes possuem maior chance de detectar os alelos mais raros (ZUCCHI, 2002).

Avaliando a diversidade genética (H_e) por população foi constatado que os valores variaram de 0,37, para a população com maior diversidade genética (Paraty), a 0,25, para a população com menor diversidade (Itaguaí), com uma média de 0,36. A população da Ilha Grande apresentou diversidade genética acima do esperado, pois além de ser uma população isolada, houve sobreposição de gerações na coleta, devido à dificuldade de encontrar indivíduos adultos vivos. Desta maneira, não ficou evidenciada baixa variabilidade genética para a população da Ilha Grande. Descarta-se, com este resultado, a hipótese de que problemas genéticos estariam causando a alta mortalidade da espécie na Ilha.

De maneira geral, os menores valores de diversidade média foram encontrados na população de Itaguaí, e os maiores valores na população de Paraty. Estes resultados podem ter sido influenciados pelo número amostral, que foi

menor em Itaguaí (n = 8) e maior em Paraty (n = 27), acompanhado de maior e menor variância, respectivamente (Tabela 4). O pequeno tamanho das amostras comprovadamente afeta a estimativa da diversidade genética dentro das populações (ROSSETO *et al.*, 1995).

Tabela 3. Número de genótipos das populações de *S. parahyba* observados com ausência (0) e presença de banda (1) e o resultado do teste de Chi-quadrado (χ^2). (Number of genotypes from *S. parahyba* populations with absence (0) and presence of band (1) and Chi-square test (χ^2)).

Bandas	Marcadores	Ilha Grande		Paraty		Itaguaí		M.Pereira		RJ		χ^2
		0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	
1	I11a	4	7	12	14	6	3	3	10	10	4	6,50
2	I11b	4	7	11	15	3	6	3	10	8	6	3,16
3	I11c	0	12	13	13	0	9	11	2	0	14	35,35**
4	I11d	3	8	12	14	0	9	0	14	3	10	14,32**
5	AX15a	6	6	7	18	5	3	6	7	8	4	5,37
6	AX15b	9	2	12	12	8	0	7	6	11	1	12,92**
7	AX15c	9	2	20	4	8	0	9	4	11	1	2,43
8	AX15d	6	5	20	5	6	3	12	1	11	1	5,98
9	AX15e	9	2	15	10	6	2	6	7	7	5	3,36
10	AX15f	0	12	5	21	0	9	0	14	5	9	12,73*
11	AX15g	0	12	0	27	0	9	3	10	0	15	17,69**
12	AX15h	7	4	20	5	9	0	11	2	13	0	8,06
13	AW18a	4	6	7	19	0	7	4	7	0	7	7,79
14	AW18b	3	7	13	13	3	3	5	7	3	8	2,78
15	AW18c	3	7	12	14	3	3	7	5	3	8	3,02
16	AW18d	6	4	13	13	2	4	3	9	2	4	3,28
17	AW18e	0	11	14	12	0	7	0	13	2	2	22,88**
18	AW18f	9	1	23	3	5	1	9	3	3	2	3,80
19	AW18g	0	11	0	27	0	7	0	13	3	7	18,37**
20	AW18h	3	7	18	8	2	4	10	2	0	4	14,94**
21	P14a	6	6	9	13	4	4	6	7	7	7	0,43
22	P14b	0	12	0	26	3	6	3	10	0	15	17,34**
23	P14c	7	4	9	3	6	1	13	0	11	1	7,34
24	P14d	3	8	4	19	3	6	0	14	0	3	9,07
25	P14e	4	7	8	7	2	5	5	7	5	7	1,44
26	P14f	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0,00
27	Q04a	4	7	15	9	7	1	8	5	9	4	4,27
28	Q04b	10	1	20	4	9	0	11	2	10	3	3,27
29	Q04c	6	6	19	6	7	1	14	0	12	1	11,63*
30	Q04d	10	1	19	6	5	3	6	7	6	7	8,86
31	Q04e	6	5	10	15	0	9	3	10	5	8	8,25
32	Q04f	3	8	8	17	6	3	6	7	3	10	4,90

*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

Tabela 4. Diversidade genética média entre locos para cinco populações de *S. parahyba* do estado do Rio de Janeiro, obtidos através de marcadores RAPD. (Average genetic diversity among loci for five *S. parahyba* populations in Rio de Janeiro State by RAPD markers).

Parâmetro	Ilha Grande	Paraty	Itaguaí	M. Pereira	RJ	Total
<i>N</i>	12	27	8	13	14	74
<i>A</i>	1,78 (0,14)	1,87 (0,12)	1,65 (0,16)	1,75 (0,16)	1,75 (0,14)	1,97 (0,06)
<i>A_e</i>	1,57 (0,14)	1,67 (0,12)	1,45 (0,14)	1,55 (0,14)	1,53 (0,14)	1,64 (0,10)
<i>H_e</i>	0,32 (0,06)	0,37 (0,06)	0,25 (0,08)	0,31 (0,06)	0,29 (0,06)	0,36 (0,04)
<i>P</i>	78,1	87,5	65,6	75,0	75,0	96,9

() entre parenteses está o erro padrão a 95% de probabilidade, $1,96(\sigma/\sqrt{n})$, sendo σ o desvio padrão; *n* = número de indivíduos amostrados; *A* = número médio de alelos por locos; *A_e* = número médio efetivo de alelos por locos; *H_e* = diversidade genética de Nei; *P* = porcentagem de locos polimórficos a 95% de probabilidade.

Tabela 5. Análise de variância molecular (AMOVA) entre cinco populações de *S. parahyba*, com base em marcadores RAPD. (Analysis of molecular variance (AMOVA) among five populations of *S. parahyba*, by RAPD markers).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P	CV	% relativa
Entre populações	4	35,996	8,999	2,73	0,003	0,386	10,49
Dentro das populações	72	237,069	3,292			3,293	89,51
Total	76	273,065				3,679	

SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio; CV = componente de variação;

O *S. parahyba* apresentou 89,51% da variação genética distribuída dentro das populações e 10,49% entre as populações (Tabela 5), sendo a divergência entre populações significativamente diferente de zero ($P < 0.05$). O padrão de maior variação genética dentro de populações é o esperado para as espécies arbóreas, em função dos mecanismos efetivos de dispersão de genes entre as populações (LOVELESS e HAMRICK, 1984).

As estimativas da distância genética variaram de 0,05 para as populações mais similares (Ilha Grande e Paraty) a 0,12 para as populações mais divergentes (Rio de Janeiro e Miguel Pereira), (Tabela 6).

Observa-se que, embora as populações de Paraty e Miguel Pereira estejam separadas por distâncias em linha reta de 320 km, apresentaram distância genética inferior a populações bem mais próximas, como por exemplo, Itaguaí e Paraty que distam entre si 194 km (Tabela 6). Este fato foi confirmado pela análise de correlação entre a distância genética e geográfica entre as populações que apresentou valor extremamente baixo ($r = 0,035$), indicando que, somente a distância geográfica, não explica a diferenciação das populações de *S. parahyba*.

A análise do dendrograma originado do agrupamento com base nas distâncias genéticas resultou na formação de três grupos: o primeiro constituído pelas populações de Ilha Grande e Paraty, o segundo pelas populações de Itaguaí e Rio de Janeiro e o terceiro pela população de Miguel Pereira (Figura 2). De maneira geral, Miguel Pereira foi a população mais divergente,

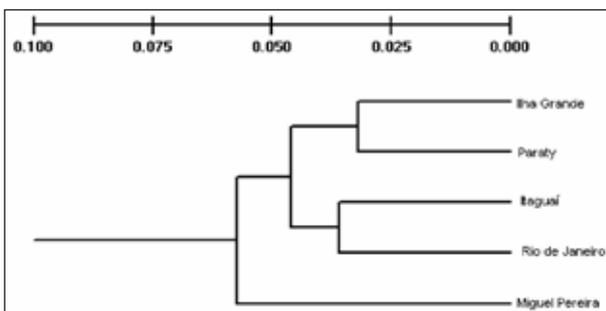


Figura 2. Dendrograma baseado na distância genética entre cinco populações de *S. parahyba* do estado do Rio de Janeiro, com base em marcadores RAPD. (Dendrogram based on genetic distance among five *S. parahyba* populations from Rio de Janeiro state, by RAPD markers).

Tabela 6. Distância genética (abaixo da diagonal) e geográfica (acima da diagonal) entre cinco populações de *S. parahyba* do estado do Rio de Janeiro, com base em marcadores RAPD. (Genetic distance (below diagonal) and geographic (above diagonal) among five populations of *S. parahyba* of the Rio de Janeiro State, by RAPD markers).

	Ilha Grande	Paraty	Itaguaí	M. Pereira	Rio de Janeiro
Ilha Grande	0	108	88	220	142
Paraty	0,050	0	194	320	248
Itaguaí	0,057	0,076	0	130	64
M. Pereira	0,106	0,052	0,074	0	112
Rio de Janeiro	0,072	0,071	0,052	0,120	0

provavelmente por ser a única situada na região serrana do estado do Rio de Janeiro. Esta área difere das demais em relação à altitude, clima e tipo de solo (Tabela 1).

DISCUSSÃO

A estimativa dos índices de diversidade genética em *S. parahyba* (Tabela 4) indicou a existência de altos níveis de diversidade genética na espécie. Os valores médios da porcentagem de locos polimórficos ($P=96,9\%$) e índice de diversidade de Nei ($H_e=0,36$) encontrados em *S. parahyba* foram superiores ao das espécies *Aspidosperma polyneuron* ($P=50\%$; $H_e=0,243$; MALTEZ, 1997), *Chorisia speciosa* ($H_e=0,344$; $P=75\%$; SOUZA *et al.*, 2004), *Genipa americana* ($H_e=0,182$; $P=50\%$; SEBBENN, 1997), *Cedrela fissilis* ($H_e=0,243$; $P=76,9\%$; GANDARA, 1996) e inferior ao das espécies *Euterpe edulis* ($H_e=0,463$; $P=100\%$; REIS, 1996), *Trema micrantha* ($H_e=0,381$; $P=100\%$; RIBAS, 2003), *Cecropia pachystachia* ($H_e=0,345$; $P=100\%$; RIBAS, 2003).

Cabe ressaltar que a maioria dos índices de diversidade genética depende da estimativa da heterozigosidade na população e considerando o caráter dominante dos marcadores RAPD, a estimativa destes índices seguindo este método é uma aproximação.

Os valores de divergência genética entre populações encontrados para o *S. parahyba* (10,49%) podem ser considerados moderados (5 a 15%; YEH, 2000). Comparando com os resultados de divergência genética obtidos para outras espécies, igualmente pioneiras, e de rápido crescimento, como *Trema micrantha* (0,7%), *Cecropia pachystachia* (2,6%) e *Maytenus ilicifolia* (9,9%), ou mesmo com espécies secundárias que tem dispersão pelo vento, como *Cedrela fissilis* (8,2%) e *Cariniana legalis* (0,9%), o *S. parahyba* apresentou valor mais alto (RIBAS e KAGEYAMA, 2004; KAGEYAMA *et al.*, 2003; MOSSI *et al.*, 2003). Em relação a espécies de estágios sucessionais mais avançados, como *Caesalpineae echinata* (44,5%) e *Euterpe edulis* (42,6%), o *S. parahyba* apresentou menor diferenciação entre populações (CARDOSO *et al.*, 2005; CARDOSO *et al.*, 2000).

A maior diferenciação populacional em relação a outras espécies de semelhante grupo ecológico e/ou síndrome de dispersão pode ter relação com as exigências ecofisiológicas do *S. parahyba* que, embora seja uma espécie pioneira, tende a ocorrer em clareiras maiores e planícies aluviais, não sendo freqüente em encostas muito íngrimes (LORENZI, 1992). O relevo escarpado da Serra do Mar, área de ocorrência das populações estudadas, e o domínio da Floresta Ombrófila Densa, aumentam a quantidade de barreiras físicas, promovendo o isolamento das populações. Além disto, a semente do *S. parahyba* é mais pesada do que outras espécies anemocóricas e rapidamente se deteriora no banco de sementes no interior de florestas muito úmidas, devido principalmente à infestação por fungos (FREIRE, 2005). Sendo assim, a sua dispersão tem menor alcance e a espécie ocupa clareiras grandes para colonização, ao contrário de outras espécies anemocóricas pioneiras, tais como embaúba e crindiúva, que formam banco de sementes persistentes no interior da floresta (RIBAS, 2003).

A ausência de uma correlação entre distância genética e distância geográfica, demonstrou que não houve relação entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas. Em espécies alógamas, a presença de autocorrelação pode ser atribuída muitas vezes à seleção, ou à dispersão de sementes nas vizinhanças das matrizes. O fluxo gênico e a dispersão de sementes para longe das matrizes, portanto, podem operar como uma fonte importante de heterogeneidade local em curtas distâncias (LINHART e GRANT, 1996).

O conhecimento da história evolutiva da espécie, assim como da formação florestal de ocorrência, é fundamental para interpretação dos resultados encontrados. De acordo com Martius (1840) o *S. parahyba* foi avistado pela primeira vez no Vale do Paraíba, local que teria dado origem ao epíteto da espécie – *parahyba* – e foi avistado na Floresta da Tijuca em meados do século XIV, sendo uma espécie típica de Floresta Ombrófila Densa Aluvial. Considerando a sua rara ocorrência na floresta alta e densa, e suas características de espécie pioneira com preferência por clareiras, a expansão das suas populações pode ter se dado com o desmatamento a partir do século XVIII. Este avanço em direção ao litoral pode ter ocasionado a menor diferenciação genética entre as populações costeiras (Rio de Janeiro e Itaguaí; Paraty e Ilha Grande), independente da distância, podendo ter origens comuns (Vale do Paraíba).

CONCLUSÃO

As cinco populações de *S. parahyba* apresentaram um alto nível de polimorfismo e de diversidade gênica, sugerindo que as populações têm potencial para a conservação genética.

Embora a maior parte da variação genética se encontre distribuída dentro das populações, a divergência genética populacional foi moderada e significativa, de forma que a amostragem para fins de conservação genética deve procurar reter ambos os níveis de variação, tanto entre como dentro de populações.

A ausência de correlação entre distância genética e geográfica sugere que este fator não foi determinante para os padrões de distância genética observados.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Haroldo Lima (JBRJ), Jorge Mityo Maeda (UFRRJ) e Alexandre Sebbenn (Instituto Florestal de São Paulo) pela revisão e discussão do trabalho. Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), especialmente a Flávia Ribeiro e a Sônia Oliveira pelo auxílio nas análises, a todo o pessoal do Laboratório de Biologia Reprodutiva de Espécies Arbóreas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (LACON/DS/IF/UFRRJ) e a CAPES pela bolsa de mestrado concedida a Juliana M. Freire para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDOSO, S.R.S.; ELOY, N.B.; CARDOSO, M.A.; PROVAN, J.; FERREIRA, P.C. Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology*, v.9, p.1753-1760, 2000.
- CARDOSO, S.R.S.; LIRA, C.F.; PEREIRA, L.R.; FERREIRA, P.C.G.; CARDOSO, M.A. High levels of genetic structuring as a result of population fragmentation in the tropical *C. echinata* Lam.. *Biodiversity and Conservation*, London, v.14, p.1047-1057, 2005.
- CORRÊA, R.X.; ABDELNOOR, R.V.; FALEIRO, F.G.; CRUZ, C.D.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Genetic distances in soybean based on RAPD markers. *Bragantia*, Campinas, v.58, n.1, p.15-23, 1999.
- DEAN, W. *A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. 484p.

- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, Rochester, v.12, n.1, p.13-15, 1990.
- ELLSTRAND, N.C.; ELAM, D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, v.24, p.217-242, 1993.
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. **Sistema brasileiro de classificação de solos: 4ª aproximação**. Rio de Janeiro, 1997. 169p.
- ESRI - ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE. **Introducing Arcview**. Redlands: 2000. 98p.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, Bethesda, v.131, p.479-491, 1992.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Documento EMBRAPA-CENARGEN, Brasília, n.20, p.1-220, 1998.
- FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.E. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327p.
- FREIRE, J.M. **Variabilidade genética, morfométrica e germinativa em populações de quapuruvu (*Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake)**. 2005. 156p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.
- GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae)**. 1996. 69p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.
- HUFF, D.R.; PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm). *Theoretical Applied Genetics*, v.86, p.927-934, 1993.
- JONES, C.J.; EDWARDS, K.J.; CASTAGLIONE, S.; WINFIELD, M.O.; SALA, F.; VAN DE WIEL, C.; BREDEMEIJER, G.; VOSMAN, B.; MATTHES, M.; BRETTSCHNEIDER, A.; BETTINI, R.; BUIATTI, M.; MAESTRI, E.; MALCEVSKI, A.; MARMIROLI, N.; AERT, R.; VOLCKAERT, G.; RUEDA, J.; LINACERO, R.; VAZQUEZ, A.; KARP, A. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding*, London, v.3, p.381-390, 1997.
- KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. *Série Técnica IPEF*, Piracicaba, v.12, n.32, p.65-70, 1998.
- KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLE, M.; PERECIM, M.B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.64, p.93-107, 2003.
- KÖPPEN, W. **Grundriss der Klimakunde**. Berlin: Walter de Gruyter, 1931. 388p.
- LEWINSOHN, T.M. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual de conhecimento**. São Paulo: Contexto, 2002. 176p.
- LINHART, Y.B.; GRANT, M.C. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, v.27, p.237-277, 1996.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, p.65-95, 1984.
- MALTEZ, H.M. **Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. - Apocynaceae (peroba rosa) em uma floresta estacional semidecídua no estado de São Paulo**. 1997. 132p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

- MARTIUS, K.F.P. **Flora brasiliensis: enumeratio plantarum in Brasília actenus detectarum.** Monachii et lipsiae: apud R. Oldenbourg, 1840. v.15.
- MOSSI, A.J.; CANSIANA, R.L.; LEONTIEV-ORLOVA, O.; CECHETA, M.L.; CARVALHO, A.Z.; PINTO, M.F.; ZANATTA, R.S.; ECHEVERRIGARAYB, S. Variabilidade genética intra e inter populacional em *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss, utilizando marcadores RAPD. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 6, 2003, Fortaleza. **Anais.** Fortaleza, 2003. 4p.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the Natural Academy of Science**, Washington, v.70, p.3321-3323, 1973.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distances from a small number of individuals. **Genetics**, Bethesda, v.89, p.583-590, 1978.
- REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmiteiro (*Euterpe edulis* M.).** 1996. 210p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- RIBAS, L.A. **Diversidade genética e sistema de cruzamento em populações naturais de duas espécies pioneiras arbóreas.** 2003. 103p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- RIBAS, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade e estrutura genética em populações naturais de *Trema micrantha* Trec. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.66, p.1-20, 2004.
- ROSSETO M.; WEAVER, P.K.; DIXON, K.W. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). **Molecular Ecology**, v.4, p.321-329, 1995.
- ROZZA, A.F.; MAÊDA, J.M. Regras para seleção e marcação de matrizes. **IF Série Registro**, São Paulo, n.25, p.75-79, 2003.
- SANTOS, E.G. **Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae).** 1994. 114p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.
- SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L.; KUEFFER, J.-M.; ROESSLI, D. **Arlequin, version 1.1: a software for population genetic data analysis.** Geneva: University of Geneva / Genetics and Biometry Laboratory, 1997
- SEBBENN, A.M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) a partir de isoenzimas.** 1997. 107p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.
- SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica – período 1995-2000: relatório parcial – estado do Rio de Janeiro.** São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica / Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 2001.
- SOUZA, L.M.F.I.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Estrutura genética em populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 70-79, jun. 2004.
- YEH, F.C. Populations genetics. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed). **Forest conservation genetics: principles and practice.** Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. 325p.
- YEH, F.C.; YANG, R.C.; BOYLE, T. **POPGENE, Version 1.21: Software Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis.** Edmonton: University of Alberta, 1997.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetics of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford, v.11, p.413-418, 1996.
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysis.** New Jersey: Prentice Hall, 1999.
- ZIMBACK, L.; MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VEIGA, R.F.A.; MELLO JR., J.R.S. Estrutura genética de populações de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.65, p.114-9, jun.2004.
- ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RPA e SSR.** 2002. 130p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

Recebido em 20/02/2006

Aceito para publicação em 22/05/2007

