

Diversidade genética em populações naturais de candeia
(*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish)Genetic diversity in natural populations of candeia
(*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish)

¹Regiane Abjaud Estopa; ²Anderson Marcos de Souza; ³Márcia Cristina de Oliveira Moura;
⁴Maria Carolina Gaspar Botrel; ⁵Evânia Galvão Mendonça; ⁶Dulcinéia de Carvalho

Resumo

A candeia, *Eremanthus erythropappus* MacLeish, é uma árvore de grande importância ecológica e econômica, de ocorrência no sul do Estado de Minas Gerais. A crescente exploração desta espécie pode colocar em risco a sua base genética em alguns locais. Com o objetivo de caracterizar a variabilidade genética intra e interpopulacional, duas populações naturais (Aiuruoca e São Tomé das Letras) localizadas no sul de Minas Gerais, foram estudadas por meio do marcador molecular RAPD. Em Aiuruoca a amostragem foi realizada em duas subpopulações. O índice de Shannon (H_o) foi 0,49 e 0,45, nas populações de Aiuruoca e São Tomé das Letras e nas subpopulações I e II de Aiuruoca os valores foram 0,48 e 0,50. A diversidade genética de Nei (H_e) foi 0,31 em Aiuruoca e 0,33 em São Tomé das Letras, nas subpopulações I e II os valores foram 0,32 e 0,29. Foi possível evidenciar a separação dos indivíduos das populações estudadas, sendo notado o agrupamento dos indivíduos pertencentes a uma mesma população. Os resultados sugerem que as subpopulações I e II (Aiuruoca) são as mais semelhantes geneticamente, evidenciando que quanto mais próximas espacialmente as populações estiverem menor a distância genética entre elas. A divergência genética foi de 0,21, demonstrando que 21% da variabilidade genética se encontra entre populações e 79% dentro das populações. A heterozigosidade total (H_T) estimada foi relativamente alta (0,4) e a estimativa de fluxo gênico não mostrou ser suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética. Os dados genéticos obtidos nas populações estudadas demonstraram que a distância genética pode ser influenciada pela distância geográfica. Isto pode estar diretamente associado à distribuição dos indivíduos nas áreas, sendo esta influenciada pelo método de dispersão bem como pela capacidade de *E. erythropappus* ser precursora na invasão dos campos e ambientes ainda não colonizados, formando assim povoamentos quase puros.

Palavras-chave: *Eremanthus erythropappus*, RAPD, Diversidade genética

Abstract

Eremanthus erythropappus MacLeish is a tree species of great ecological and economical importance occurring mainly in South of Minas Gerais State. The increasing exploitation of this species could to endanger its genetic basis. The objective of this study was to determine the genetic variability among and within two natural populations (Aiuruoca and São Tomé das Letras) located in South Minas Gerais using RAPD molecular marker. At Aiuruoca the sampling was carried out in two subpopulations I and II. The Shannon index (H_o) assessed for the Aiuruoca and São Tomé das Letras populations was 0.49 and 0.45 respectively. In the subpopulations I and II, was 0.48 and 0.50 respectively. The genetic diversity Nei (H_e) was 0.31 in Aiuruoca and 0.33 in São Tomé das Letras; 0.32 and 0.29 in the subpopulations I and II respectively. The individuals of each population were grouped in the same cluster. The results showed that the subpopulations I and II (Aiuruoca) are genetically more similar suggesting that geographically closer populations have less genetic differentiation. The genetic divergence was 0.21 showing that 21% of the genetic variability was found among the populations and 79% within the same population. The total heterozygosity estimated was relatively high (0.4) and the gene flow was not enough to counteract the genetic drift effects. The data obtained in the populations studied have demonstrated that the genetic distance can be correlated with the geographical distance. This could be directly associated to the individual spatial distribution which in turn is influenced by the plant dispersal mechanisms as well as by the fact that the *E. erythropappus* can be a pioneer tree on environments yet to be settled, thus setting a nearly homogeneous populations.

Keywords: *Eremanthus erythropappus*, RAPD, Genetic diversity

¹Mestre em Agronomia pela UFPA - Bolsista da CAPES - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: regianefloresta@bol.com.br

²Doutorando em Engenharia Florestal - UFPA - Bolsista do CT-HIDRO - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: andersonsouza@bol.com.br

³Doutora em Engenharia Florestal - UFPA - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: marcia.moura@ufpa.br

⁴Mestranda em Engenharia Florestal - UFPA - Bolsista da CAPES - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: mcbotrel@bol.com.br

⁵Bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG - UFPA - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: evaniafloresta@bol.com.br

⁶Professora do Departamento de Ciências Florestais da UFPA - Caixa Postal 3037 - Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: dulce@ufpa.br

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os ecossistemas naturais vêm sofrendo um acelerado processo de fragmentação, principalmente em decorrência do crescimento populacional e da expansão da fronteira agrícola. Como conseqüência, a formação de mosaicos de vegetação remanescente é cada vez mais evidenciada, reduzindo assim o tamanho de grandes populações e acarretando alterações nos processos ecológicos e genéticos das espécies naturais que ali ocorrem.

As implicações diretas da fragmentação sobre a biodiversidade geram não só a redução indiscriminada de áreas ecologicamente distintas, como também a diminuição da variabilidade genética inter e intrapopulacional, aumentando assim o cruzamento de indivíduos aparentados, o que compromete a evolução natural das espécies e reduz a capacidade de adaptação das mesmas às mudanças ambientais (YOUNG e BOYLE, 2000).

Dentre as espécies que ocorrem nos campos e pastagens abertas do Sul de Minas Gerais (CETEC, 1994), uma das que tem se destacado é a candeia, *Eremanthus erythropappus* MacLeish, uma árvore de grande importância, seja pela sua representatividade ecológica como também devido ao seu potencial econômico (exploração de madeira e óleo essencial). No processo de sucessão ecológica, *E. erythropappus* é considerada uma espécie pioneira sendo, precursora na invasão dos campos, colonizando solos pobres, arenosos e até mesmo pedregosos (ARAÚJO, 1944; RIZZINI, 1981). As árvores dessa espécie crescem em campos e pastagens abertas, com manchas de vegetação baixa, cobrindo rapidamente o terreno, devido ao seu tipo de dispersão (anemocórica) e adaptabilidade a solos pobres; suas sementes chegam a distâncias variáveis, formando povoamentos mais ou menos puros (CETEC, 1994), conhecidos como candeiais. Esta espécie também se estabelece em floresta mesófila, após perturbações (PEDRALLI, 1997), como a abertura de clareiras. Geralmente, os indivíduos de *E. erythropappus* encontrados dentro dessas florestas são maiores, devido à competição com as demais espécies por luz e, portanto, crescendo mais que os indivíduos que formam os candeiais (SILVA, 2001). No entanto, à medida que o processo sucessional da floresta avança, ou seja, à medida que a floresta se torna mais estruturada, o número de indivíduos da espécie diminui (PEDRALLI, 1997).

Estudos genéticos de populações naturais têm como objetivo avaliar e quantificar como a

variabilidade genética está distribuída no tempo e no espaço. O conhecimento desta distribuição entre e dentro das populações naturais permite um melhor entendimento de como a seleção está atuando em função da adaptabilidade, pois quanto maior a variabilidade genética existente na população, maior é a chance de perpetuação da espécie. Dessa forma, a caracterização dos níveis de variabilidade entre e dentro das populações naturais de candeia podem trazer subsídios para a implantação de estratégias de conservação e o acompanhamento de programas de melhoramento florestal a serem executados.

Os rápidos avanços na área de biologia molecular têm fornecido uma série de novos métodos para estudos genéticos e de evolução de plantas. Muitos desses métodos fornecem excelentes meios para aquisição de informações genéticas relevantes a serem empregadas em programas de conservação genética e melhoramento florestal. Várias estratégias genéticas e recomendações para a conservação da biodiversidade têm sido formuladas para várias espécies arbóreas (ERIKSSON *et al.*, 1993; HEDRICK e MILLER, 1992; KRESOVICH e MCFERSON, 1992; NAMKOONG, 1992; GREGORIUS, 1991).

A técnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA; WILLIAMS *et al.*, 1990) que utiliza um *primer* de seqüência arbitrária para amplificar simultaneamente fragmentos de DNA, é utilizada para a investigação de polimorfismo. A simplicidade, acessibilidade, baixo custo, ampla disponibilidade de *primers* e sua transferibilidade entre espécies são características que tornaram esta técnica muito utilizada na investigação e caracterização de recursos genéticos (FORD-LLOYD *et al.*, 1992). Como para espécies florestais, estudos morfológicos demandam longo tempo e grandes áreas experimentais, o uso de marcadores moleculares é de grande aplicabilidade (NESBITT *et al.*, 1995; ROSSETTO *et al.*, 1995).

Considerando a importância da espécie e a falta de estudos genéticos, populações naturais de *E. erythropappus* foram estudadas com o objetivo de avaliar a distribuição da variabilidade intra e interpopulacional, a partir do marcador molecular RAPD.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações de estudo

Para a caracterização da diversidade genética de *E. erythropappus* MacLeish foram tomadas

duas populações naturais, todas localizadas no sul do Estado de Minas Gerais (Tabela 1). Na população I (Aiuruoca) a amostragem foi feita considerando o gradiente de altitude existente na área, assim 50 indivíduos foram coletados, porém 25 indivíduos foram amostrados num gradiente de 1289 a 1385 m, sendo considerada subpopulação I (Aiuruoca I) e, os demais indivíduos de 1415 a 1578 m, subpopulação II (Aiuruoca II), ambas localizadas a uma distância de 1260 m. Esta amostragem teve como objetivo avaliar a influência da altitude sobre a variabilidade genética. Na população II (São Tomé das Letras), distanciada a 37 km de Aiuruoca, 25 indivíduos foram amostrados. Para todas as áreas de estudo o principal fator considerado durante a amostragem foi a livre polinização entre as árvores e uma distância mínima de 100m entre as mesmas, visando garantir uma melhor representatividade da variabilidade genética.

Todo o material vegetal (folhas) coletado foi identificado e encaminhado ao Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras e armazenado em freezer a (- 80°C).

Extração de DNA

As extrações de DNA foram feitas de acordo com o procedimento descrito por Nienhuis *et al.* (1995). Cerca de duzentos miligramas de folhas jovens foram trituradas em 800 μ L de tampão de extração, com 0,2% de β -mercaptoetanol, areia lavada e PVP (polivinilpirrolidona), em um almofariz. O tampão extração constituiu de 2% de CTAB, 100 mM de Tris (pH 8,0), 20 mM de EDTA (pH 8,0), 1,4 M de NaCl e 1% PVP. O material macerado foi colocado em tubos de 1 mL no banho-maria por 60 minutos a 65°C. A primeira extração dos ácidos nucléicos foi realizada com álcool isoamílico (24:1), separando-se a fase orgânica da aquosa por centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos, e coletando-se o sobrenadante. À fase aquosa do novo tubo foram adicionados 60 μ L de solução de 10% de CTAB e 1,4M NaCl, sendo homogeneizados e centri-

fugados a 12.000 rpm por 10 minutos. À nova fase aquosa superior foram misturadas 450 μ L de isopropanol gelado e permaneceu por 1 hora no freezer para precipitação do DNA.

Após precipitação, centrifugou-se novamente por 10 minutos a 14.000 rpm. A este material acrescentaram-se 200 μ L de etanol 70% e centrifugou-se a 14.000 rpm por 10 minutos. O "pellet" foi deixado em capela de fluxo laminar para secagem e, finalmente, os ácidos nucléicos foram solubilizados em tampão TE (100 μ L) [1 mM de Tris e 0,1 mM EDTA] e quantificados pelo fluorímetro Hoeffer DQ 200 e, posteriormente, diluído para a concentração de 10 ng/ μ L, utilizada na reação de RAPD.

Reação RAPD

O DNA obtido foi amplificado pelo método RAPD, onde foram utilizados 10 *primers* da "Operon technologies" (Califórnia, USA), que identificaram polimorfismo nos indivíduos. Cada reação de RAPD foi conduzida em um volume de 11 μ L com a seguinte composição: 22 ng de DNA genômico, 100 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,4 μ M de um oligonucleotídeo iniciador (*primer*), 0,2 unidades da enzima Taq DNA polimerase, Tampão de reação (50 mM de tris pH 8,3, 20 mM de KCl, 2 mM de MgCl₂, 5 μ g. μ L⁻¹ de BSA, 0,25% de Ficoll 400, 10 mM de tetrazine) e água pura. As reações foram feitas em tubos de 0,2 mL em termociclador GeneAmp PCR System 9700 programados para 45 ciclos, nas seguintes condições: uma etapa de 2 minutos, a 94°C, para a desnaturação inicial; 15 segundos para desnaturação a 94°C; 30 segundos para anelamento do iniciador a 42°C, e 30 segundos para extensão a 72°C. Por fim uma etapa de 2 minutos, a 72°C, para extensão final.

Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em gel de agarose 1%, em tampão TBE (0,045 M Tris-Borato e 0,001 M EDTA), a 50V por 180 minutos. Posteriormente foram corados com brometo de etídio à concentração de 0,5 μ L/mL, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Bio-Rad e fotografados.

Tabela 1. Locais de coleta, coordenadas geográficas, longitude de populações de *Eremanthus erythropappus* MacLeish. (Gather area, geographic coordinates of *Eremanthus erythropappus* MacLeish populations).

Populações	Cidades de origem (MG)	Latitude	Longitude	Altitude (m)*
I	Aiuruoca (subpop.I)	21° 58'	44°36'	1200 a 1400
	Aiuruoca(subpop.II)			1400 a 1600
II	São Tomé das Letras	21°43'	44°59'	1300 a 1600

*A altitude corresponde ao local de coleta das folhas.

Os fragmentos foram classificados visualmente de acordo com a sua intensidade, conforme sua resolução e grau de amplificação. Apenas os fragmentos de alta e média intensidade foram utilizados na análise e, no gel, cada fragmento foi considerado um caráter único.

Análise da similaridade genética

A partir dos fragmentos obtidos foi construída uma matriz de zero e um, onde um indica a presença de fragmentos e zero, a ausência. A estimativa de similaridade genética (sg_{ij}), entre cada par de indivíduos, foi efetuada pelo coeficiente de Jaccard (JACCARD, 1901). A análise de agrupamento das similaridades foi feita pelo método da média das similaridades (UPGMA - Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average), gerando um dendrograma, por meio do programa NTSYS-PC 2.1 (ROHLF, 1992).

As plantas geneticamente diferentes foram identificadas no dendrograma a partir da estimativa de valor máximo significativo de similaridade (sg_m). O sg_m foi estimado por meio do teste de t , a 1% de probabilidade (HAGIWARA *et al.*, 2001).

Caracterização da variabilidade genética

Para a caracterização da variabilidade genética foi utilizado o programa POPGENE versão 1.32 (YOUNG *et al.*, 2000), utilizando parâmetros para dados diplóides dominantes, onde a estatística de variação genética para cada população foi calculada conforme Nei (1987). Tendo em vista a natureza dominante dos dados, esse programa pressupõe, para os cálculos das estimativas das frequências alélicas, que os locos estejam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências alélicas foram estimadas a partir da raiz quadrada da frequência do genótipo nulo (recessivo). Foi realizada também a análise de diversidade genética em populações pelo método de Nei (1987), estimada a heterozigosidade total (H_T), diversidade genética média dentro (H_S), diversidade genética entre populações (G_{ST}) e fluxo gênico (Nm).

Caracterização da estrutura genética espacial

A estrutura genética das populações estudadas foi examinada usando a distância de Tanimoto (DEICHSEL e TRAMPISCH, 1985). A distância genética entre os indivíduos de *E. erythropappus* foi calculada pelo software SGS (DEGEN, 2001). A estrutura genética espacial de cada população foi calculada com a distância genética média en-

tre todos os pares de indivíduos pertencentes a cada classe de distância espacial.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise da variabilidade genética entre as árvores de *E. erythropappus* foi realizada utilizando 10 *primers*, os quais apresentaram 56 fragmentos polimórficos de DNA amplificados (Tabela 2).

Tabela 2. Número de fragmentos amplificados em *Eremanthus erythropappus* MacLeish, utilizando RAPD. (Amplified fragments number in *Eremanthus erythropappus* MacLeish, using RAPD).

<i>Primers</i>	Seqüência 5'→3	Número de fragmentos Amplificados
OPW-04	CAGAAGCGGA	4
OPJ-05	CTCCATGGGG	4
OPN-20	GGTGCTCCGT	6
OPO-08	CCTCCAGTGT	6
OPN-14	AAGCGACCTG	5
OPE-18	GGACTGCAGA	6
OPB-11	GGACTGCAGA	6
OPN-06	GAGACGCACA	7
OPJ-04	CCGAACACGG	6
OPO-10	CCGAACACGG	6
Total		56

O número de fragmentos polimórficos utilizados na avaliação da variabilidade genética em plantas é bastante variável, independente do grau de domesticação da espécie. Para espécies como a samambaia *Dryopteris cristata*, espécie ainda não domesticada, Landergott *et al.* (2001) encontraram 27 fragmentos. Pigato e Lopes (2001) avaliando a variabilidade genética de quatro gerações de *Eucalyptus urophylla* identificaram 86 fragmentos amplificados. Zimback *et al.* (2004), analisando a diversidade genética em *Trichilia pallida*, uma Meliaceae clímax, encontraram 72 fragmentos polimórficos. Segundo Dudley (1994), resultados obtidos com 50 a 100 fragmentos tendem a coincidir com informações baseadas no "pedigree" das amostras. Portanto, os 56 fragmentos obtidos neste trabalho, podem ser considerados suficientes para a análise da espécie em questão.

Como o polimorfismo foi acessado com um número relativamente pequeno de *primers*, pode-se supor que o material dispõe de um enorme potencial para ser utilizado em programas de melhoramento visando ganhos genéticos significativos, desde que este polimorfismo revelado corresponda a regiões do genoma que possam vir a ser expressas.

Os *primers* utilizados apresentaram um número variável de fragmentos amplificados e, a partir dos mesmos, foram calculados os índices de diversidade (Tabela 3).

Tabela 3. Índice de diversidade de Shannon Lewontin (1972) e diversidade genética de Nei (1978) em populações de *Eremanthus erythropappus*. (Diversity index of Shannon (1972) and genetic diversity of Nei (1978) in *Eremanthus erythropappus* populations).

Populações	Índice Shannon	Diversidade genética
Aiuruoca (Subp. I)	0,48	0,32
Aiuruoca (Subp. II)	0,49	0,29
São Tomé das Letras	0,45	0,33
Para o conjunto de populações	0,58	0,40

O índice de Shannon varia de 0 a 1 e considera que quanto mais próxima de zero, mais baixa é a diversidade. Nas populações de *E. erythropappus* analisadas em Aiuruoca e São Tomé das Letras, o índice de Shannon (H'_s) foi 0,48 e 0,45, e nas subpopulações I e II de Aiuruoca os valores

foram 0,48 e 0,49. Os dados obtidos, foram próximos aos encontrados por Freitas (2001), que analisando a mesma espécie encontrou um valor de H'_s variando de 0,38 a 0,48. Em outras espécies arbóreas como *Populus tremuloides* valores próximos de diversidade foram encontrados de 0,58-0,69 (YEH *et al.*, 1995), e para *Aspidosperma polyneuron*, Torezan *et al.* (2005) obtiveram H'_s igual a 0,41 para indivíduos adultos.

A diversidade genética de Nei (H_e) foi 0,31 para a população amostrada em Aiuruoca e 0,33 em São Tomé das Letras. Nas duas subpopulações I e II Aiuruoca os valores foram 0,32 e 0,30. Comparados com outros estudos, os valores encontrados são próximos aos relatados em outras espécies arbóreas, como para *Trichilia pallida* Swartz, H_e variou de 0,27 a 0,33 (ZIMBACK *et al.*, 2004) e *Aspidosperma polyneuron*, H_e médio foi de 0,28 (TOREZAN *et al.*, 2005).

O dendrograma obtido das similaridades genéticas é apresentado na Figura 1.

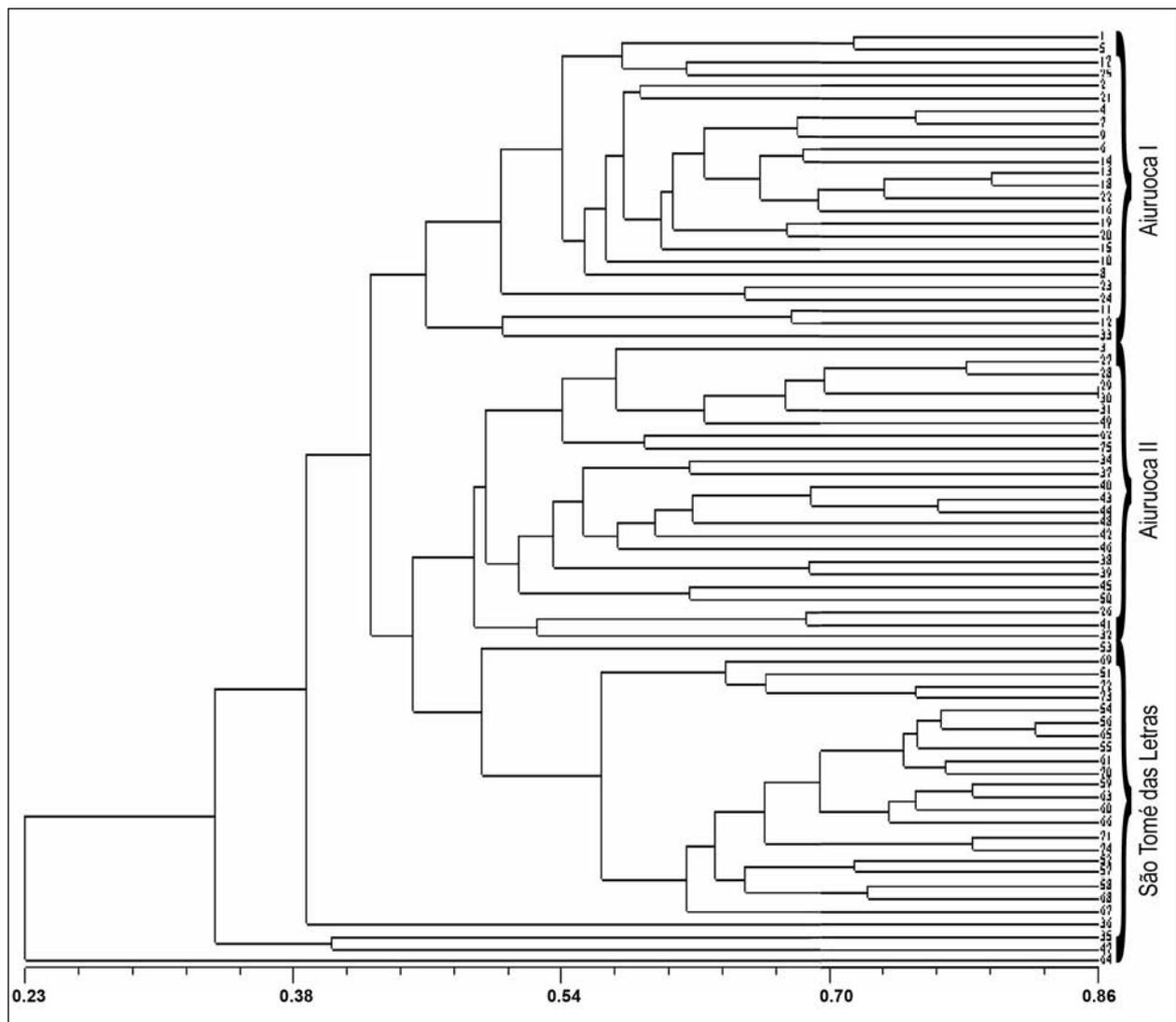


Figura 1. Análise de agrupamento hierárquico pelo método UPGMA de genótipos de *Eremanthus erythropappus*, com base em dados obtidos por marcadores RAPD. (Hierarchical cluster analysis of genotypes of *Eremanthus erythropappus* using UPGMA, based on data obtained with RAPD).

Os grupos formados acima da linha de corte foram considerados próximos geneticamente. Foi possível evidenciar a separação dos indivíduos das populações estudadas a 82%, sendo notado o agrupamento dos indivíduos pertencentes a uma mesma população. Este resultado mostra que os agrupamentos formados representam as populações isoladamente. Este fato pode ser observado também para as subpopulações I e II de Aiuruoca, demonstrando que o gradiente de altitude pode estar influenciando a distribuição de certos genótipos na área de estudo. Assim, para a implantação de um programa de melhoramento da espécie, a coleta de material nas três áreas representaria suficientemente a variabilidade genética da espécie possibilitando assim, futuros ganhos genéticos a serem alcançados. Portanto, as coletas devem ser efetuadas em todas as áreas de ocorrência da espécie, respeitando a distribuição da mesma em um gradiente altitudinal.

As medidas originais de distância genética e identidade genética de Nei (1978) estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Medidas originais de distância genética e identidade genética entre populações de *Eremanthus erythropappus*. (Originals measures of genetic distance and genetic identity among *Eremanthus erythropappus* populations)

Populações	Distância genética	Identidade genética
Subp. I com Subp. II	0,14	0,86
Subp. I com São Tomé	0,26	0,77
Subp. II com São Tomé	0,19	0,82

Os resultados sugerem que as subpopulações de *E. erythropappus* I e II amostradas em Aiuruoca são as mais semelhantes geneticamente, evidenciando que quanto mais próximas geograficamente as populações estiverem, menor a distância genética entre elas. Nota-se também que a subpopulação II de Aiuruoca foi mais próxima geneticamente da população de São Tomé das Letras, confirmando a influência da altitude sobre a variabilidade genética, já que os indivíduos das duas populações localizam-se numa faixa de altitude semelhante (Aiuruoca II de 1415 a 1578 m e São Tomé das Letras de 1306 a 1560 m).

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações foi calculada de acordo com Nei (1978) (Tabela 5). A divergência genética foi de 0,21, demonstrando que 21% da variabilidade genética se encontra entre populações e 79% dentro das populações.

Tabela 5. Diversidade genética de Nei em populações subdivididas de *Eremanthus erythropappus*. (Nei's genetic diversity in subdivided *Eremanthus erythropappus* populations)

	H_T	H_S	G_{ST}
Média	0.40	0.31	0.21
Desvio padrão	0,01	0,01	-

H_T = diversidade genética total (heterozigiosidade); H_S = diversidade genética dentro das populações; G_{ST} = relação entre a diversidade genética entre populações e a diversidade genética total.

Os valores obtidos estão em concordância com aqueles encontrados para outras espécies alógamas tropicais. Zimback *et al.* (2004) relataram que 12,5% da variabilidade genética em populações de *Trichilia pallida* estão contidas entre suas populações. Em populações de *Eugenia dysenterica*, Zucchi (2002) observou uma divergência genética de 27,03% entre dez populações da espécie, acessada por marcadores RAPD. Sales *et al.* (2001) encontraram uma divergência genética de 28,58% entre populações de *Digitalis minor*. Wadt (2001) verificou que 28,1% da diversidade genética está distribuída entre populações de *Piper hispidinervium*.

A heterozigiosidade total (H_T) estimada foi relativamente alta (0,404), mostrando que a espécie apresenta nestas populações uma reserva de variabilidade genética. Para Hamrick e Godt (1990) em espécies arbóreas que apresentam um ciclo longo, sistema misto de reprodução, um eficiente mecanismo de dispersão de pólen e semente e, com ampla distribuição geográfica, pode-se esperar altos níveis de diversidade genética total.

Para estas populações de *E. erythropappus*, a estimativa de fluxo gênico não mostrou ser suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética, que muitas vezes é gerada pelo isolamento das populações naturais devido à fragmentação. Segundo Hartl e Clark (1997), quando o fluxo gênico entre populações excede quatro migrantes por geração, ocorre a homogeneização dos alelos entre estas, que funcionam como populações panmíticas. Para as subpopulações I e II de Aiuruoca a estimativa do fluxo foi de 3,38; já entre as populações de Aiuruoca e São Tomé das Letras esta estimativa foi de 2,79. Estes resultados indicam uma relação entre o fluxo gênico e a distância geográfica das populações. As subpopulações I e II de Aiuruoca por estarem distanciadas uma da outra por apenas 1260 m, apresentaram uma maior taxa de fluxo gênico, o que era de se esperar. Porém, avaliando-se esta taxa entre as subpopulações de Aiuruoca e a população de São Tomé das Letras, não foi obser-

vada uma diferença considerável entre os valores obtidos, embora, estas populações estejam distanciadas aproximadamente em 37 km.

A distribuição espacial dos genótipos de *E. erythropappus*, dentro de cada população está apresentada nas Figuras 2, 3, 4.

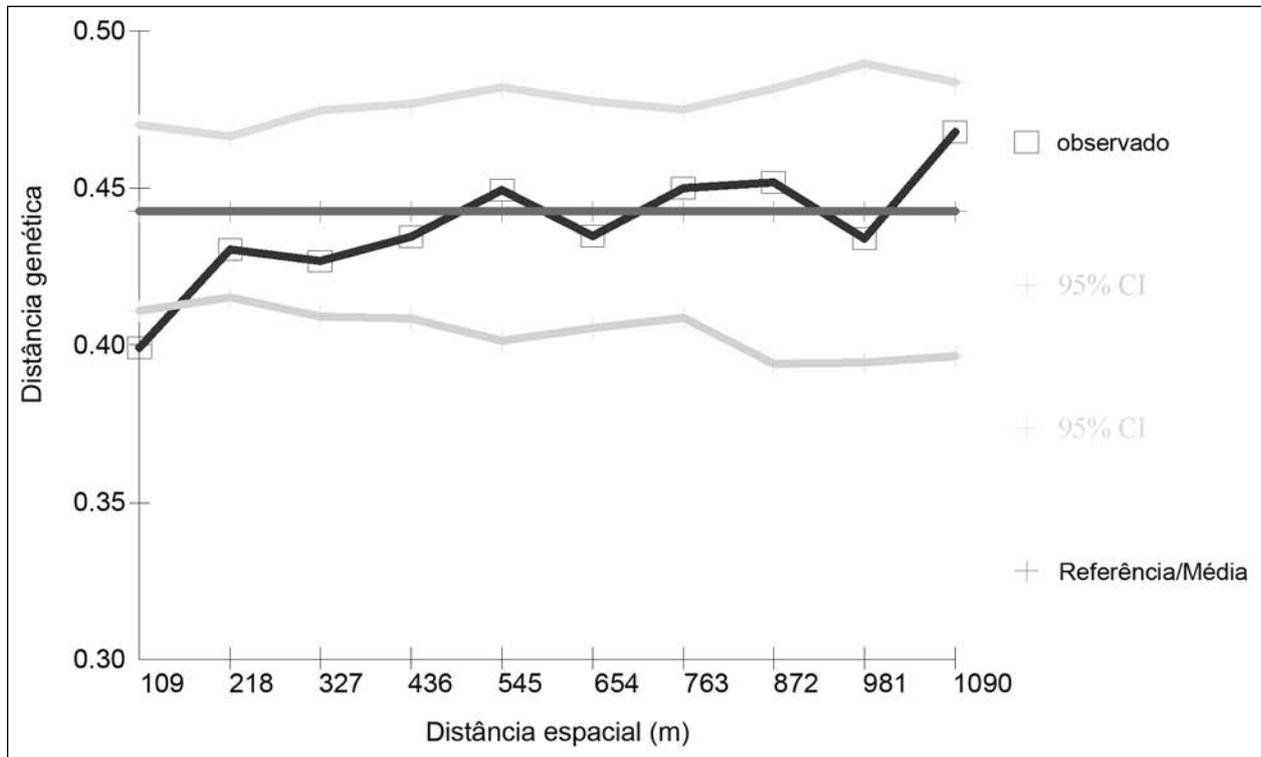


Figura 2. Distância genética média entre todos os pares de indivíduos de *Eremanthus erythropappus* pertencentes a cada classe de distância espacial da subpopulação I. (Genetic distance among individuals in each spatial distance class in subpopulation I)

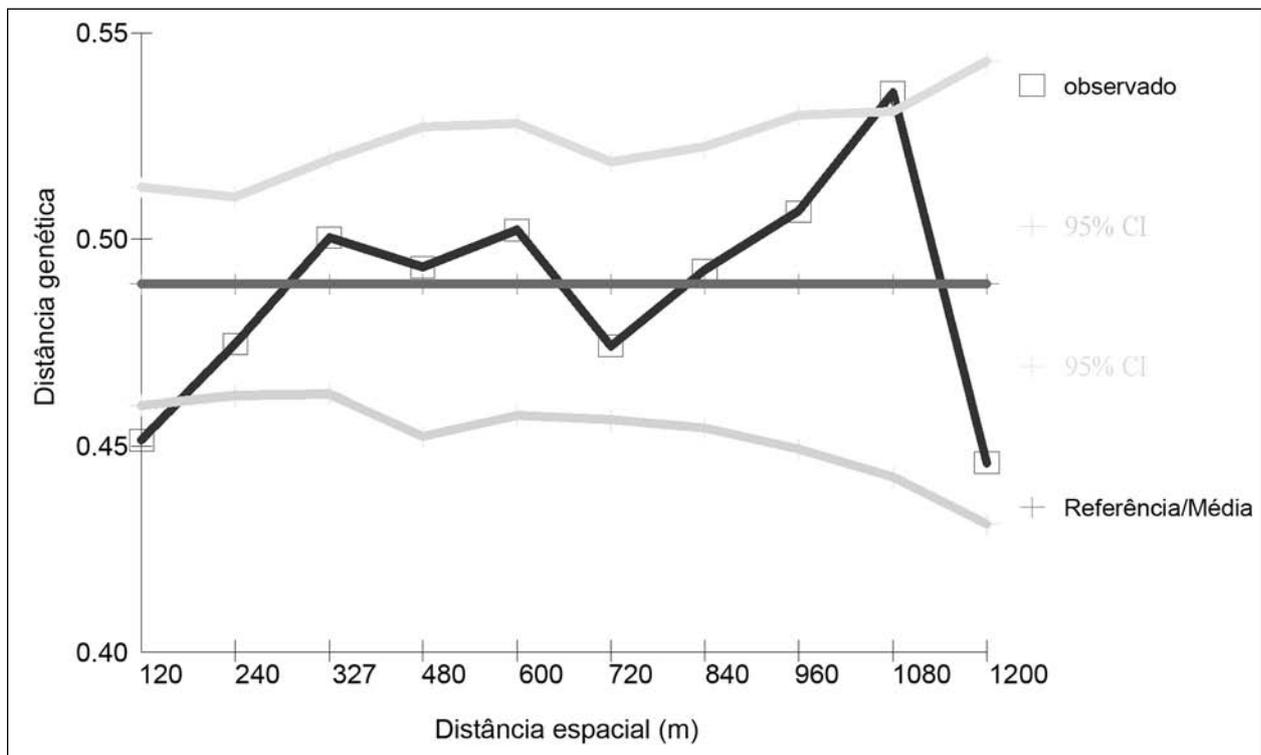


Figura 3. Distância genética média entre todos os pares de indivíduos de *Eremanthus erythropappus* pertencentes a cada classe de distância espacial da subpopulação II. (Genetic distance among individuals in each spatial distance class in subpopulation II)

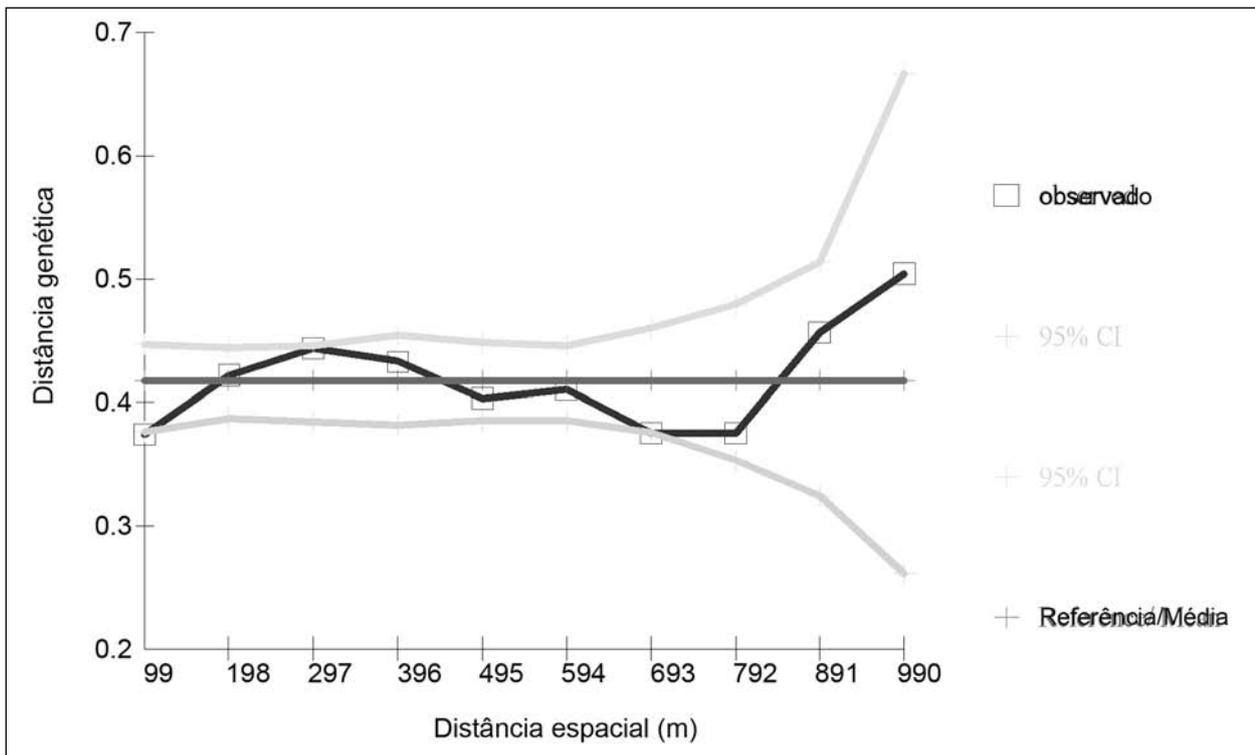


Figura 4. Distância genética média entre todos os pares de indivíduos de *Eremanthus erythropappus* pertencentes a cada classe de distância espacial da população de São Tomé das Letras. (Genetic distance among individuals in each spatial distance class in São Tomé das Letras)

As populações estudadas demonstraram que a distância genética pode ser influenciada pela distância geográfica. Na subpopulação I de Aiuruoca, na classe de 0 a 109 m, os indivíduos são mais próximos geneticamente, sugerindo uma possível estruturação de família. Nas demais classes a distribuição dos indivíduos demonstrou ser aleatória. Na subpopulação II, até aproximadamente 150 m de distância, os indivíduos demonstraram ser mais próximos geneticamente, acima disso, a distribuição mostrou-se aleatória. Em São Tomé das Letras a distribuição dos indivíduos demonstra ser aleatória nas dez classes de distância, não evidenciando a ocorrência de estruturação genética nesta população. As subpopulações de Aiuruoca demonstraram a ocorrência de estruturação de famílias entre indivíduos mais próximos, tal fato pode estar diretamente associado à distribuição dos indivíduos nas áreas, a qual é influenciada pelo método de dispersão bem como pela capacidade de *E. erythropappus* ser precursora na invasão dos campos e ambientes ainda não colonizados, formando assim povoamentos quase puros.

Embora a densidade de *E. erythropappus* seja alta, os altos valores de variabilidade genética encontrados dentro das populações estudadas demonstram que a preservação destas áreas é essencial para a conservação *in situ* e *ex situ*.

Para a conservação *in situ* da espécie, devido à ocorrência de níveis de estruturação genética espacial nas subpopulações de Aiuruoca, pode-se inferir que na escolha de áreas a serem mantidas conservadas, seja necessário um tamanho mínimo viável, a fim de garantir a manutenção e preservação da base genética desta espécie. Para a implantação de um programa de melhoramento da espécie, a coleta de sementes, deve ser feita a uma distância mínima de 150 m entre as árvores, a fim de evitar os efeitos da estruturação genética detectada. De acordo com os resultados, ainda para fins de melhoramento, a conservação de áreas com gradiente altitudinal diferenciado pode garantir a manutenção da variabilidade genética. Assim, a amostragem de árvores situadas em diferentes gradientes de altitude pode trazer possíveis ganhos genéticos, uma vez que a variabilidade genética demonstra ser alta entre populações localizadas em gradientes distintos. Para o manejo, as árvores porta-sementes devem ser mantidas não só considerando uma distância mínima como também o gradiente altitudinal. Desta forma, para garantir a perpetuação e manutenção da variabilidade genética de *E. erythropappus*, populações de outras regiões do estado de Minas Gerais devem ser avaliadas geneticamente, a fim de se obter informações sobre a distribuição da variabilidade genética desta espécie.

CONCLUSÕES

As populações de *E. erythropappus* estudadas possuem variabilidade genética suficiente a ser utilizada em programas de melhoramento e conservação da espécie.

As subpopulações de Aiuruoca apresentaram maiores taxas de diversidade genética do que a população de São Tomé das Letras.

Nas subpopulações de Aiuruoca o gradiente de altitude pode estar influenciando a distribuição da variabilidade genética.

Em todas as populações a diversidade genética é maior dentro das populações do que entre populações.

O fluxo gênico encontrado não demonstrou ser suficiente para contrapor os efeitos de deriva genética.

Todas as populações estudadas demonstraram que a distância genética pode ser influenciada pela distância geográfica. Nas subpopulações de Aiuruoca os resultados demonstram que nas menores classes de distância pode estar ocorrendo uma estruturação de família entre os indivíduos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo suporte financeiro, ao CNPq pela concessão das bolsas de Iniciação Científica, Doutorado e Produtividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, L.C. *Vanillosmopsis erythropappa* Sch. Bip: sua exploração florestal. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1944. 54p.

CETEC - CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. *Ecofisiologia da candeia: relatório técnico*. Belo Horizonte: SAT/CETEC, 1994. 104p.

DEGEN, B.; PETIT, R.; KREMER, A. SGS - Spatial Genetic Software: a computer program for analysis of spatial genetic and phenotypic structures of individuals and populations. *Journal of Heredity*, Oxford, v.92, p.447-448, 2001.

DEICHSEL, G.; TRAMPISCH, H.J. *Clusteranalyse und Diskriminanzanalyse*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1985.

DUDLEY, J.W. Comparasion of genetic distance estimators using molecular marker data. *Analysis of molecular marker data*, Corvallis, p.3-7, 1994.

ERIKSSON, G.; NAMKOONG, G.; ROBERDS, J.H. Dynamic gene conservation for uncertain futures. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v.62, p.15-37, 1993.

FORD-LLOYD, B.V.; HOWELL, E.; NEWBURY, H.J. An evaluation of random amplified polymorphic DNA (RAPD) as a tool for detecting genetic instability Musa germoplasm stored *in vitro*. In: SYMPOSIUM BREEDING BANANA AND PLANTAIN RESISTENCE TO DISEASES AND PETS, Montpellier, 1992. *Proceedings*. Montpellier, 1992. 64p.

FREITAS, V.L.O. *Variabilidade genética em *Vanillosmopsis erythropappa* Schlutz Bip. (Asteraceae) em áreas de candeia e de mata*. 2001. 69p. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

GREGORIUS, H.R. *Gene conservation and the preservation of adaptability*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1991. p.31-47

HAGIWARA, W.E.; SANTOS, J.B.; CARMO, S.L.M. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, v.1, n.4, p.355-362, 2001.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S. (Ed.). *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. p.43-63.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. *Principles of population genetics*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997.

HEDRICK, P.W.; MILLER, P.S. Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecological Applications*, Washington, v.2, p.30-46, 1992.

JACCARD, P. Édute comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, Lausanne, v.37, p.547-579, 1901.

KRESOVICH, S.; MCFERSON, J.R. Assessment and management of plant genetic diversity: considerations of intraspecific and interspecific variation. *Field Crops Research*, Amsterdam, v.29, p.185-204, 1992.

LANDERGOTT, U.; HOLDEREGGER, R.; KOZLOWSKI; SCHNELLER, J.J. Historical bottlenecks decrease genetic diversity in natural populations of *Dryopteris cristata*. *Heredity*, Oxford, v.87, n.3, p.344-355, 2001.

NAMKOONG, G. Biodiversity: issues in genetics, forestry and ethics. *Forestry Chronicle*, Ottawa, v.68, p.438-443, 1992.

- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v.87, p.583-590, 1978.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512p.
- NESBITT, K.A.; POTTS, B.M.; VAILLANCOURT, R.E.; WEST, A.K.; REID, J.B. Partitioning and distribution of RAPD variation in a forest tree species, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Heredity*, Oxford, v.74, p.628-637, 1995.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P.; SANTOS, J.B. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.2, p.300-306, 1995.
- PEDRALLI, G. Estrutura diamétrica, vertical e análise do crescimento de 'candeia' (*Vanillosmopsis erythropappa* Sch. Bip) na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto - MG. *Revista Árvore*, Viçosa, v.21, n.2, p. 301-306, abr./jun. 1997.
- PIGATO, S.M.P.C.; LOPES, C.R. Avaliação da variabilidade genética em quatro gerações de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake por meio do marcador molecular RAPD. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.60, p.119-133, 2001.
- RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1981. 296p.
- ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system (version 1.70)**. New York: Exeter Publishers, 1992. 470p.
- ROSSETTO, 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*, Oxford, v.4, n.3, p.321-329, 1995.
- SALES, E.; NEBAUER, S.G.; MUS, M.; SEGURA, J. Population genetic study in the Balearic endemic plant species *Digitalis minor* (Scrophulariaceae) using RAPD markers. *American Journal of Botany*, Columbus, v.88, n.10, p.1750-1759, 2001.
- SILVA, E.F. **Caracterização edáfica e fitossociologia em áreas de ocorrência natural de candeia (*Vanillosmopsis erythropappa* Sch. Bip)**. 2001. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- TOREZAN, J.M.D.; SOUZA, R.F.; RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; CAMARGO, E.H.; VANZELA, A.L.L. Genetic variability of pre and post-fragmentation cohorts of *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. (Apocynaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v.48, n.2, p.171-180, 2005.
- WADT, H.O. **Estrutura genética de populações naturais de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) visando seu uso e conservação**. 2001. 95p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2001.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetics markers. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v.18, p.6531-6535, 1990.
- YEH, F.C.; CHONG, D.K.X.; YANG, R.C. RAPD variation within and among natural populations of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. *Journal of Heredity*, Carey, v.86, n.6, p.454-460, 1995.
- YOUNG, A.G.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. 352p.
- YOUNG, A.G.; BOYLE, T.J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p.123-135
- ZIMBACK, L.; MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VEIGA, R.F.A.; MELLO JÚNIOR, J.R.S. Estrutura genética de populações de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.65, p.114-119, 2004.
- ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 130p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

Recebido em 23/03/2005

Aceito para publicação em 23/02/2006