

Padrões históricos e filogeográficos do gênero *Caryocar* (Caryocaraceae)

Advaldo Carlos de SOUZA-NETO¹; Rosane Garcia COLLEVATTI¹

¹Laboratório de Genética & Biodiversidade, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, CP 131. Goiânia, Goiás. Brasil. 4001-970.

rosanegc68@hotmail.com

Palavras-chave: Biogeografia, Fluxo gênico, Estruturação populacional

Introdução

O gênero *Caryocar* possui ampla distribuição, sendo representado em diversos biomas brasileiros, tais como o Cerrado, a Caatinga, a Mata Atlântica e a Amazônia. O gênero é composto por espécies arbóreas, distribuído na região neotropical. Dentre as doze espécies do gênero que ocorrem no Brasil, somente quatro espécies ocorrem fora da Amazônia. *Caryocar brasiliense* Cambess distribui-se por todo o Cerrado; *C. coriaceum* Wittmack e *C. cuneatum* Wittmack na Caatinga ou transição Cerrado/ Caatinga; *C. edule* Casarreto é localizado na Mata Atlântica; e na região amazônica encontramos outras oito espécies e quatro foram utilizadas nesse trabalho: *C. villosum* Aubl.; *C. pallidum* A.C. Smith; *C. glabrum* (Aubl) Pers. e *C. microcarpum* Ducke (Prance & Silva, 1973).

Tendo como base a grande distribuição das espécies do gênero no Brasil, elucidar sua origem geográfica e os padrões de dispersão e ocupação dos novos ambientes se torna importante para compreender alguns padrões biogeográficos da América do Sul. A filogeografia ajuda a compreender as relações históricas dos taxa, podendo ser aplicados para a compreensão da origem dos mesmos e os eventos biogeográficos associados com sua distribuição atual, elucidando possíveis barreiras geográficas ou climáticas que impediram o fluxo gênico histórico entre as diversas populações (Avice *et al.*, 1987; Avice, 1994; Schaal *et al.*, 1998).

Alguns biomas brasileiros sofrem muito com a degradação ambiental. O Cerrado, por exemplo, tem sofrido intensa fragmentação nos últimos 60 anos, devido à expansão agrícola. Nesse cenário, tornam-se necessários estudos para que sejam estabelecidas áreas de conservação em locais estratégicos da distribuição de espécies ameaçadas. Conhecer a estruturação geográfica das linhagens genéticas das mesmas pode atuar de forma direta na indicação de áreas prioritárias para a conservação. Logo, a filogeografia pode fornecer informações extremamente

relevantes para a tomada de decisões sobre populações importantes para a conservação de toda história evolutiva das espécies (Crozier, 1997; Crandal, 2000).

Portanto, o trabalho tem como objetivo elucidar as relações de parentesco entre as linhagens genealógicas das espécies envolvidas e estimar o tempo de divergência entre as mesmas. O gênero surgiu na Amazônia, pois a região possui a maior diversidade de espécies do gênero e possui o fóssil mais antigo do grupo. Esperamos que as espécies de áreas abertas têm origem a partir de diferenciações genéticas causadas pelo isolamento geográfico de diferentes linhagens nos refúgios pelos criados pelos efeitos de glaciações do quaternário

Metodologia

Os resultados preliminares foram gerados através do seqüenciamento da região intergênica cloroplastidial *trnH-psbA* (Sang et al., 1997). Os indivíduos e as populações utilizados encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Populações utilizadas no trabalho

População	Espécie	Número de indivíduos
Campus da UFMS - Campo Grande (MS)	<i>Caryocar brasiliense</i>	14
Parque Estadual da Serra de Caldas (GO)	<i>Caryocar brasiliense</i>	13
Parque Nacional Grande Sertão Veredas (MG)	<i>Caryocar brasiliense</i>	16
Parque Florestal de Itirapina (SP)	<i>Caryocar brasiliense</i>	13
Rondonópolis (MT)	<i>Caryocar brasiliense</i>	15
Porto Nacional (TO)	<i>Caryocar brasiliense</i>	8
Barreiras (BA)	<i>Caryocar cuneatum</i>	13
Darcinópolis (TO)	<i>Caryocar cuneatum</i>	10
Estreito (MA)	<i>Caryocar cuneatum</i>	5
Posse (GO)	<i>Caryocar cuneatum</i>	4
Santa Filomena (PI)	<i>Caryocar cuneatum</i>	4
Crato (CE)	<i>Caryocar coriaceum</i>	10

O DNA foi extraído a partir das folhas dos indivíduos coletados, utilizando-se o protocolo de extração CTAB 2% (Doyle & Doyle, 1987), quantificado através de eletroforese em gel de agarose 1% com o auxílio de marcador com peso molecular

conhecido. Em seguida diluiu-se a solução de DNA para uma concentração de, aproximadamente, 3 ng/ μ L, que foi utilizada para a amplificação do fragmento específico nas reações em cadeia da polimerase (PCR).

Após as reações de PCR os fragmentos amplificados foram quantificados a partir de eletroforese em gel de agarose 2%. As reações de seqüenciamento ocorreram em ambas direções, “*forward*” e “*reverse*” para montagem da fita consenso. Posteriormente foram o seqüenciamento ocorreu em um sequenciador automático de DNA ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, CA) utilizando o kit de seqüenciamento DYEnamic™ ET terminator (GE, Sweden), de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados preliminares contam com um fragmento de 225 pares de base. As seqüências foram analisadas e as fitas consenso montadas, editadas e alinhadas utilizando o *software* SeqScape 2.1 (Applied Biosystems, CA).

Para a construção da rede de haplótipos foi utilizada a metodologia de “*median-joining network*” (Bandelt et al., 1999) implementada no programa Network (Forster et al., 2000), de maneira que cada sítio teve peso igual para a construção da rede. A análise de variância molecular (AMOVA, Excoffier et al., 1992) e o cálculo dos parâmetros de diversidade haplotípica e diversidade nucleotídica foram realizadas no programa Arlequin ver. 2000 (Schneider et al., 2000).

Resultados e Discussão

Como resultados preliminares foram avaliados 125 indivíduos, sendo 79 indivíduos de *C. brasiliense*, 36 de *C. cuneatum* e 10 de *C. coriaceum*. Os indivíduos seqüenciados apresentaram quatro haplótipos (figura 01). A espécie *C. brasiliense* apresentou dois haplótipos, porém um dos haplótipos foi exclusivo de um único indivíduo. *C. cuneatum* apresentou três haplótipos e *C. coriaceum* dois haplótipos. A diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (h) foram baixas ($\pi = 0,016$; $h = 0,177$), devido ao fato de que a grande maioria dos indivíduos apresentaram o mesmo haplótipo (113 indivíduos). Essa baixa diversidade pode ser explicada pela baixa taxa evolutiva das regiões cloroplastidiais (e. g. Drouin et al, 2003; Yamane et al, 2006), de modo que houve somente uma substituição nucleotídica e dois eventos de inserção / deleção dentre os 225 pares de base analisados.

A AMOVA encontrou uma forte diferenciação populacional ($F_{ST} = 0,238$, $p < 0,001$). Essa diferenciação era esperada e ocorreu devido à presença de haplótipos exclusivos às diferentes espécies. Não há sinal de retração recente no

tamanho das populações seguido por expansão (D de Tajima = -1,003 $p = 0,123$; Distribuição *Mismatch* $p = 0,657$) sugerindo um tamanho populacional constante ao longo da história evolutiva das espécies.

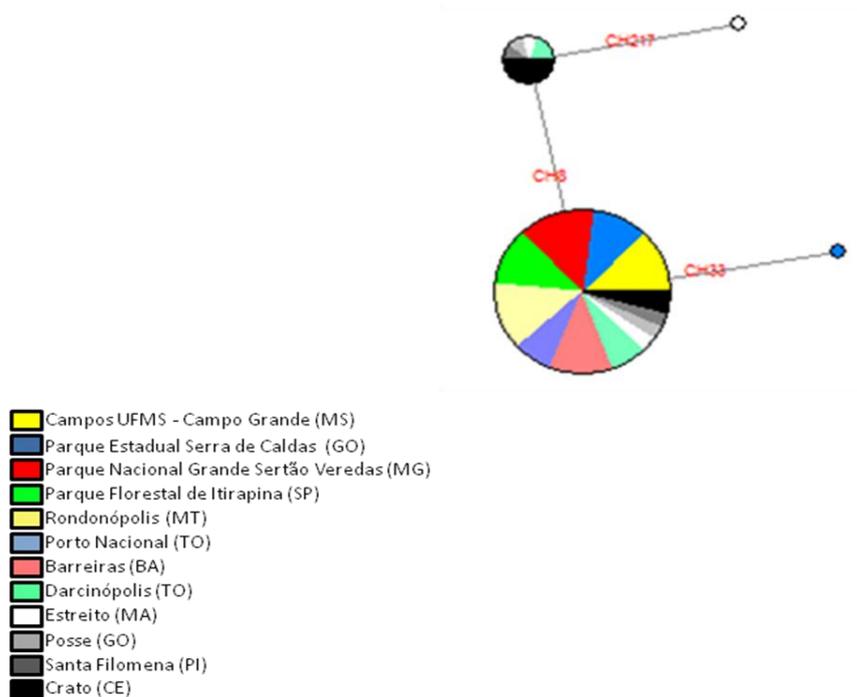


Figura 1. Rede de haplótipos da região psbA-trnH

Conclusão

Os resultados demonstraram pouca variação dentro da espécie *Caryocar brasiliense*, mas evidenciou diferenciação entre as espécies *C. brasiliense*, *C. cuneatum* e *C. coriaceum*, embora as mesmas compartilhassem haplótipos. A inclusão de novas regiões do genoma cloroplastidial e nuclear e de mais indivíduos das espécies envolvidas pode auxiliar na melhor compreensão das relações de parentesco entre as espécies e da história biogeográfica das mesmas.

Referências Bibliográficas

- Avice JC, Arnold J, Ball RM *et al.* (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489-522.
- Avice JC (1994) *Molecular Markers. Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.

- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37-48.
- Crandall KA, Bininda-Emonds ORP, Mace GM, Wayne RK (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**, 290-295.
- Crozier RH (1997) Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny, and conservation worth. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **28**, 243-268.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, **12**, 13-15.
- Drouin G, Daoud H, Xia J (2008) Relative rates of synonymous substitutions in the mitochondrial, chloroplast and nuclear genome of seed plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 827-831.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.
- Forster P, Bandelt HJ, Rohl A *et al.* (2000) *NETWORK 3.1.1.0. Software free available at: www.fluxus-engineering.com*. Fluxus Technology Ltd., Cambridge.
- Prance GT, Silva MF (1973) *Flora Neotropica Monograph No. 12 Caryocaraceae*. Hafner Publishing Company, New York.
- Sang T, Crawford D, Stuessy TF (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 1120-1136.
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998) Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, **7**, 465-474.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) *ARLEQUIN, Version 2000: A Software for Population Genetic Data Analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.
- Yamane K, Yano K, Kawahara T (2006) Pattern and rate of indel evolution inferred from whole chloroplast intergenic regions in sugarcane, maize and rice. *DNA Research* **13**: 197–204.

Apoio financeiro: CNPq/MCT/CAPES (projeto: 563624/2010-8)