

## **Genética da Conservação de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. em fragmentos florestais da Mata Atlântica.**

Arthur Tavares de Oliveira MELO<sup>†</sup>, Alexandre Siqueira Guedes COELHO<sup>†</sup>, Marlei de Fátima PEREIRA<sup>‡</sup>, Angel José Vieira BLANCO<sup>‡</sup> e Edivani Villaron FRANCESCHINELLI<sup>‡</sup>

<sup>†</sup>Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Setor de Melhoramento de Plantas – UFG.

<sup>‡</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral – UFG.

email: [arthurmelobio@gmail.com](mailto:arthurmelobio@gmail.com)

Palavras Chave: Genética de Populações, Marcadores SSR, *Cabralea canjerana*, Conservação da Natureza.

### **Introdução**

O Brasil é considerado pela comunidade acadêmica internacional como o país que detêm a maior diversidade biológica do planeta. A Mata Atlântica é o ecossistema brasileiro mais severamente afetado pela fragmentação do ambiente natural. A *Cabralea canjerana* é uma espécie que ocorre na região Neotropical, principalmente na Mata Atlântica, embora não seja endêmica desta região. Sua madeira é de fácil manuseio e indicada para confecção de móveis, e na construção civil (Lorenzi 1996).

O processo de fragmentação de habitats tem uma influência direta na composição genética de uma população, atuando na redução da variabilidade genética intrapopulacional e conseqüentemente, perda do seu valor adaptativo. Uma população nestas condições sofre ação de uma série de fatores genéticos e estocásticos que, em poucas gerações, podem levar a população a uma extinção local. Devido a isso, os níveis de variabilidade genética foram incluídos pela IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza) como importantes parâmetros usados na classificação de espécies ameaçadas. O conhecimento a respeito de como a diversidade genética está estruturada no espaço geográfico contribui para nosso entendimento sobre a história evolutiva e a dinâmica populacional das espécies (Caballero et al., 2010). O fluxo gênico (Slatkin, 1987; Storfer, 1999) e a riqueza alélica (Caballero et al., 2010) são os parâmetros populacionais mais importantes na determinação de estratégias adequadas para a conservação da biodiversidade (Awise, 2010).

O uso de dados genéticos já é, atualmente, uma ferramenta poderosíssima de auxílio aos biólogos conservacionistas, principalmente nas estimativas de

parâmetros demográficos de populações ameaçadas. Neste contexto, os marcadores moleculares microssatélites (SSR), se destacam (O'Brien, 1994).

Portanto, este trabalho tem o objetivo de usar dados de frequência dos alelos para avaliar como populações de *Cabralea canjerana* da Mata Atlântica estão se comportando geneticamente devido a fragmentação do habitat.

## Materiais e Métodos

O local de estudo pertence à Área de Proteção Ambiental – APA Fernão Dias, localizada entre os municípios de Gonçalves e Camanducaia em Minas Gerais. O material vegetal foi coletado em sete fragmentos de Mata Atlântica. Foram coletadas, em média, 27 amostras de folhas, de cada fragmento, totalizando, 184 amostras (Tabela 1).

Frag.	Amostras coletadas (n°)	Nome do Fragmento	Tamanho da área efetiva	Grau de isolamento (km)	Longitude S	Latitude W	Altitude aprox. (m)
1	27	Dito Ferreira	0,9 ha	0,71	22° 41' 15"	45° 54' 31"	1660
2	33	Afonso Luiz	1,4 ha	1,10	22° 40' 59"	45° 53' 58"	1660
3	11	Sr. Wilson	12 ha	0,86	22° 41' 12"	45° 54' 11"	1640
4	17	Loreano	7,5 ha	0,66	22° 41' 18"	45° 54' 6"	1600
5	39	Bicho do Mato	15 ha	Conectado	22° 41' 43"	45° 53' 28"	1660
6	29	Bicho do Mato	300x65 m	Corredor	22° 41' 35"	45° 53' 32"	1660
7	28	Johnny	3.971 ha	Conectado	22° 42' 19"	45° 52' 52"	1800

Tabela 1: Coordenadas e características dos fragmentos onde os dados de fenologia de *Cabralea canjerana* foram coletados.

Grau de isolamento é a distância do fragmento amostrado a outro mais próximo.

O DNA das 184 amostras coletadas extraídos, juntamente com quatro marcadores microssatélites dos oito marcadores desta classe existentes para *Cabralea canjerana* (Pereira et al., 2011) foram usados nas reações de PCR com o objetivo de amplificar fragmentos de DNA polimórficos entre indivíduos e populações. A visualização do polimorfismo e determinação dos alelos foram feitas no analisador automático de DNA 3100 e pelo software GeneMapper™ 3.5 (*Applied Biosystems*), respectivamente.

Nas análises estatísticas nós usamos os seguintes aplicativos: GDA (Lewis & Zaykin, 2001) para estimarmos os principais parâmetros de genética de populações; FSTAT (Goudet, 2002) no cálculo da riqueza alélica média das populações; NTSys (Rohlf, 1998) na estimação da correlação cofenética ( $r^2$ ); BOOD 3.03 (Coelho, 2001) no cálculo da distância genética entre as populações; RSTCalc (Goodman, 1997) para estimar o valor do  $R_{ST}$  e o STRUCTURE 2.3 (Pritchard, et al., 2000) para

identificar a quantidade de subpopulações existentes através de uma abordagem Bayesiana de análise dos dados.

## Resultados e Discussão

O total de alelos encontrados foi de 57, variando de 9 (Ccan 31) a 24 (Ccan 04) por loco, com uma média de 14,25 alelos por loco, corroborando com os resultados de Nybom (2004). A riqueza alélica – o número de alelos segregando em determinada população é um importante parâmetro aliado às tomadas de decisões nos programas conservação (Caballero et al., 2010). Os valores de riqueza alélica, bem como a heterozigiosidade observada podem ser encontrados na tabela 2.

Fragmentos	N <sup>a</sup>	A <sup>b</sup>	Ar <sup>c</sup>	He <sup>d</sup>	Ho <sup>e</sup>
Pop.1	27	9.00	8.322	0.745	0.589
Pop.2	33	9.75	9.734	0.796	0.660
Pop.3	11	6.50	6.358	0.769	0.547
Pop.4	17	5.75	5.719	0.708	0.546
Pop.5	39	6.50	6.422	0.631	0.504
Pop.6	29	6.50	6.209	0.635	0.609
Pop.7	28	8.25	7.832	0.760	0.782

Tabela 2: Características genéticas dos sete fragmentos baseada nos quatro locus analisados.

<sup>a</sup> Número de indivíduos amostrados

<sup>b</sup> Número de alelos encontrados

<sup>c</sup> Riqueza alélica média

<sup>d</sup> Heterozigiosidade esperada

<sup>e</sup> Heterozigiosidade observada

A probabilidade de autozigue foi estimada através das estatísticas F de Wright multilocus. Uma análise de variância intra e interpopulacional mostraram como estão estruturadas geneticamente as sete populações (Tabela 3), isto é, encontramos maior valor da variância da frequência dos alelos dentro das populações do que entre as mesmas ( $\sigma^G = 2.435$ ;  $\sigma^I = 0.425$  e  $\sigma^P = 0.234$ ), o que é encontrado em espécies alógamas. O grau de diferenciação entre as populações, pode fornecer uma estimativa do fluxo gênico aparente ( $F_{ST} = 0.075$ ) e mostra que entre as sete populações ainda há uma troca de genes ao longo das gerações, gerando uma diferenciação interpopulacional moderada (Hartl & Clark, 2010). Porém, a fragmentação leva ao isolamento entre as populações impedindo a troca de genes entre elas, aumentando os efeitos da endogamia e deriva genética. Assim, por ter o poder de retardar a adaptação local (Slatkin, 1987), o fluxo gênico é tão importante para a conservação. A estimativa do  $R_{ST}$  intrapopulacional mostra o número de migrantes por geração ( $Nm = 2.92$ ), além de definir a deriva genética

como sendo o processo dominante na criação de diferenciação local, sugerindo que a subdivisão populacional é recente.

Locus	N	A <sup>a</sup>	F <sub>IS</sub> <sup>b</sup>	F <sub>IT</sub> <sup>b</sup>	F <sub>ST</sub> <sup>b</sup>	R <sub>ST</sub> <sup>c</sup>
Ccan17	169	12	0.285	0.335	0.070	0.084
Ccan04	155	24	0.459	0.496	0.067	0.105
Ccan31	152	10	0.040	0.075	0.036	0.081
Ccan28	183	13	-0.253	-0.089	0.130	0.043
Média	--	--	0.079	0.204	0.075	0.078

Tabela 3: Estrutura genética populacional dos 184 indivíduos de *Cabralea canjerana*.

<sup>a</sup> Alelos por loco

<sup>b</sup> Calculado pelo procedimento de Weir & Cockerham (1984)

<sup>c</sup> Calculado usando o RSTCalc. (<http://www.biology.ed.ac.uk/research/institutes/evolution/software/rst>)

Na figura 1, percebe-se, que há uma correlação positiva entre distância genética e distância geográfica, ou seja, as populações mais próximas geograficamente são mais similares geneticamente, corroborando com o modelo de matapopulações “*patchy population*”. Já na figura 2 apresentamos o número de subpopulações estimado pela análise Bayesiana feita no STRUCTURE. O método de decisão de qual é o número de subpopulações mais provável foi o proposto por Evanno et al. (2005).

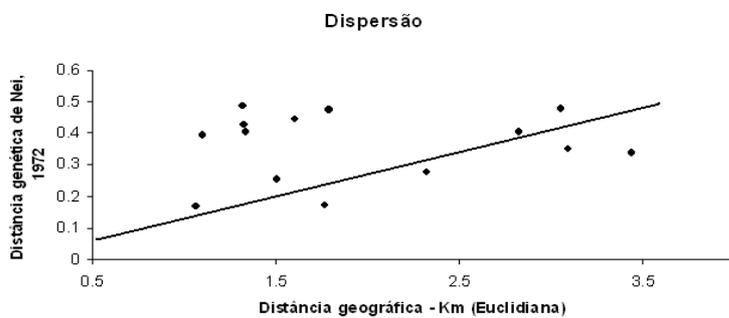


Figura 1: Relação entre distância genética de Nei 1972 e distância geográfica (Km) para as sete populações de *Cabralea canjerana* (Teste de Mantel para correlação das matrizes:  $r^2 = 0.618$ , p-valor = 0.99).

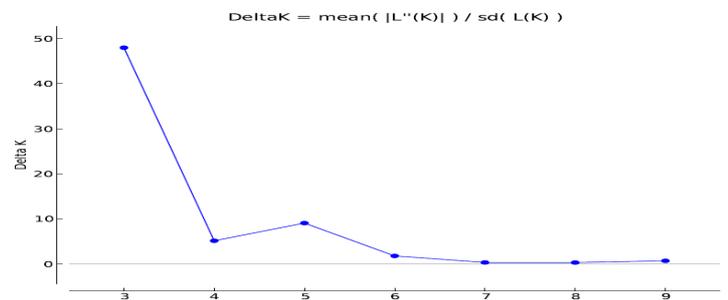


Figura 2: Valores de  $\Delta K$  para o número de subpopulações (K) a posteriori mais verossímil. Três é o número de subpopulações mais provável. Subpopulação 1 (Frag.1, Frag.2, Frag.3 e Frag.4), Subpopulação 2 (Frag.5 e Frag.6) e Subpopulação 3 (Frag.7).

## Conclusões

1) A criação da APA foi importante para redução da fragmentação do habitat, permitindo elevado fluxo gênico entre os fragmentos restantes.

2) A subpopulação 1, formada pelos fragmentos 1, 2, 3 e 4 merece mais atenção dos programas de conservação, pois estas apresentam maiores valores de riqueza alélica, sendo responsáveis pela contribuição de alelos privados para populações vizinhas.

3) A manutenção do tamanho efetivo populacional destes fragmentos é importante para impedir a redução dos níveis de diversidade genética.

## Referências Bibliográficas

- AVISE, J. C. Perspective: conservation genetics enters the genomics era. **Conservation Genetics**, v. 11, p.665–669. 2010.
- CABALLERO, A.; RODRÍGUEZ-RAMILO, S. T.; ÁVILA, V.; FERNÁNDEZ, J. Management of genetic diversity on subdivided populations in conservation programmes. **Conservation Genetics**, v. 11, p. 409 – 419. 2010.
- COELHO, A.S.G. BOOD: Avaliação de dendrogramas baseada em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap. Versão 3.0. Goiânia: Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 2001.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p. 2611–2620. 2005.
- GOODMAN, S. J. RST CALC: A collection of computer programs for calculating unbiased estimates of genetic differentiation and determining their significance for microsatellite data. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 881-885. 1997.
- HARTL, D. L. & CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4ª ed. Editora Artmed: Porto Alegre. 2010.
- LORENZI, H. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Plantarum**, v.1, p. 239. 1996.
- LEWIS, P. O. & ZAYKIN, D. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html> . 2001.
- NYBOM, H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraespecific genetic diversity in plants. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 1143 – 1155. 2004.
- O'BRIEN, S. J. A role for molecular genetics in biological conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, p. 5748 – 5755. 1994.
- PEREIRA, M. F.; BANDEIRA, L. F.; BLANCO, A. J. V.; COELHO, A. S. G.; CIAMPI, A. Y.; FRANCESCHINELLI, E. V. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Cabralea canjerana* (Meliaceae). **American Journal of Botany**, p. e1–e3. 2011.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v. 155, p. 945-959. 2000.
- ROHLF, J. F. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0. New York. 1998.
- SLATKIN, M. Gene flow and geographic structure of natural population. **Science**, v. 236, p. 787 – 792. 1987.
- STORFER, A. Gene flow and endangered species translocations: a topic revisited. **Conservation Biology**, v. 87, p. 173 – 180. 1999.