

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM GENÉTICA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E
CONSERVAÇÃO DE *Tabebuia aurea*
(SILVA MANSO) BENTH & HOOK. F. EX
S. MOORE (BIGNONIACEAE), UMA
ESPÉCIE ARBÓREA DO CERRADO**

Autora: Fernanda Fraga Rosa

Orientadora: Rosane Garcia Collevatti

Coorientadora: Mariana Pires de Campos Telles

GOIÂNIA, 2012

Rosa, Fernanda Fraga.

R788d Diversidade Genética e Conservação de *Tabebuia aurea*
(Silva Manso) Benth & Hook F. EX S. Moore (Bignoniaceae),
uma Espécie Arbórea do Cerrado [manuscrito] / Fernanda
Fraga Rosa. – 2012.

59 f. : il.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica
de Goiás, Mestrado em Genética, 2012.

“Orientadora: Profa. Dra. Rosane Garcia Collevatti”.

“Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Mariana Pires de Campos
Telles”.

1. *Tabebuia aurea*. 2. Cerrado - Diversidade Genética. 3.
Cerrado - Conservação. I. Título.

CDU: 581.5(043)

Fernanda Fraga Rosa

**DIVERSIDADE GENÉTICA E
CONSERVAÇÃO DE *Tabebuia aurea*
(SILVA MANSO) BENTH & HOOK. F. EX
S. MOORE (BIGNONIACEAE), UMA
ESPÉCIE ARBÓREA DO CERRADO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação “Stricto Sensu” em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito para a obtenção do título de Mestre em Genética

GOIÂNIA, 2012

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu / Mestrado em Genética

Candidata: Fernanda Fraga Rosa

Dissertação: Diversidade Genética e Conservação de *Tabebuia aurea*
(Silva Manso) Benth & Hook. f. ex S. Moore
(Bignoniaceae), uma espécie arbórea do Cerrado

Dissertação defendida e aprovada como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética, defendida e aprovada, em 12 de agosto de 2011 pela banca examinadora constituída por:

Orientadora: Dr^a. Rosane Garcia Collevatti

Coorientadora: Dr^a. Mariana Pires de Campos Telles

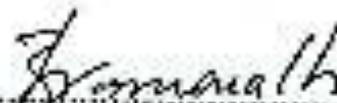
Examinador: Dr. Breno de Faria Vasconcellos

Examinadora: Dr^a. Flávia Melo Rodrigues

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM GENÉTICA
DEFENDIDA EM 12 DE AGOSTO DE 2011 E APROVADA
PELA BANCA EXAMINADORA COM A NOTA

9,0 (nove vírgula zero)

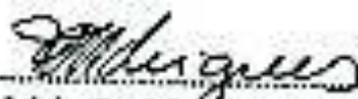
Banca Examinadora



Dr. Breno de Faria Vasconcelos - PUC Goiás
(presidente)



Dr. Rosane Garcia Collevati / UFG
(membro externo)



Dr. Flávia Melo Rodrigues / PUC Goiás
(membro interno)

DEDICATÓRIA

*Ao meu marido Alair e aos meus
filhos Luiz Gustavo e Mariana, pelo
apoio, carinho e paciência. Amo muito
vocês!*

AGRADECIMENTOS

Senhor Jesus! Obrigada, pela minha vida, pela oportunidade crescer, de aprender e de concluir mais uma etapa.

Agradeço a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização dessa dissertação. Em especial:

À minha orientadora Professora Doutora **Rosane Garcia Collevatti**, pela oportunidade de trabalhar em seu projeto, por todos os ensinamentos de coleta, de bancada, de genotipagem, de análise de dados, por me emprestar o carro pra ir à Embrapa e por toda paciência, atenção e confiança.

À minha Coorientadora Professora Doutora **Mariana Pires de Campos Telles**, pela coragem e confiança em orientar-me, mesmo sabendo que eu não tinha experiência em laboratório de Genética Molecular. Por todas as oportunidades de aprendizado e de trabalho, pela bolsa de estudo, por contribuir com a minha formação moral e profissional, pela compreensão, carinho e paciência.

Aos Professores **Breno de Faria Vasconcellos** e **Flávia Melo Rodrigues** por todos os ensinamentos e por aceitarem participar da banca examinadora dessa dissertação.

À Doutora **Aline Cabral Braga de Medeiros**, por todo apoio no Laboratório de Genômica e Biotecnologia da UCB - DF, pelo auxílio e por todos os ensinamentos teóricos e práticos com *Tabebuia aurea*.

À Mestre e querida prima **Lucileide Vilela Resende**, por tudo que me ensinou, por todo apoio, atenção e paciência no Laboratório de Genética & Biodiversidade do Instituto de Ciências Biológicas I da Universidade Federal de Goiás.

Aos professores **Thannya Nascimento Soares**, **Talge Boni** e **Renato Caparroz** pela amizade, apoio, pelas sugestões e ensinamentos.

Ao Professor Doutor **Alexandre Coelho** e à Doutora **Priscila Rangel** do Laboratório do Setor de Melhoramento de Plantas da Faculdade de Agronomia – UFG, por todo apoio na genotipagem de parte das amostras deste trabalho.

Às pesquisadoras **Rosana Vianello** e **Tereza Cristina Borba** do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão, pelo apoio na genotipagem de parte das amostras deste trabalho.

À Professora Doutora **Vera Saddi** pela atenção e carinho sempre, ao Professor Doutor **Flávio Ayres** pelo incentivo de fazer o mestrado e a todos os professores do Mestrado em Genética da PUC-Goiás pela contribuição na minha formação profissional e pela ajuda em todos os momentos solicitados.

Às minhas ex-alunas, colegas de mestrado e bolsa PROCAD, **Sara** e **Thaís**, pelo companheirismo nas aulas, nos trabalhos, no laboratório e no estágio em Brasília.

Aos meus queridos colegas de laboratório **Jacqueline Lima**, **Felipe Gouveia** e **Monik Oprea**, pelas caronas, pelas trocas de experiências, pela diversão e amizade.

Aos meus queridos colegas de laboratório **Suelen Rabelo**, **Ludymila Guedes**, **Dayane Melo**, **Franciele Peixoto**, **Natácia Lima**, **Advaldo Carlos** e aos demais colegas de **LGBio** por todo carinho, pelas dicas, ensinamentos e trocas de experiências.

Ao meu amado marido **Alair Camargo** pelo apoio moral e financeiro, pela paciência, pelo carinho e companheirismo.

Aos meus pais, **Marlene** e **Luiz** e às minhas tias **Luzia** e **Terezinha**, pelo amor, carinho, apoio e incentivo para continuar estudando. Aos meus amados filhos **Luiz Gustavo** e **Mariana** e ao meu querido irmão **Douglas**.

Ao amigo **Fernando Camargo** pela sessão de fotos com a *T. aurea*, pelas caronas para Brasília, pelas conversas e por dividir comigo as mesmas aflições de fazer um mestrado e escrever uma dissertação. Ao estudante de Geografia **Galileu Morgado** que fez o mapa das populações de *T. aurea*.

À **Capex**, ao **CNPq** e à empresa **Systema Naturae de Consultoria Ambiental LTDA**, pelo suporte financeiro, sem o qual não seria possível a conclusão desse mestrado e a realização dessa dissertação.

A todos, MUITO OBRIGADA!!!

RESUMO

Tabebuia aurea é uma espécie arbórea de ampla distribuição no Cerrado que está sujeita aos efeitos deletérios da fragmentação deste bioma. Neste trabalho, foram estudadas 237 amostras de 12 populações de *Tabebuia aurea* com base na variação de 11 locos microssatélites, com o objetivo de analisar a diversidade e estrutura genética e testar as causas da diferenciação das populações. *Tabebuia aurea* possui alta diversidade genética em todas as populações com 379 alelos encontrados, uma média de 34,4 alelos por loco, as populações apresentaram uma média geral de 11,89 alelos revelando um elevado conteúdo informativo associado aos marcadores microssatélites. Os valores médios de heterozigidade esperada (H_e) e observada (H_o) encontrados para os locos foram de 0,894 e 0,692 respectivamente. O coeficiente de endogamia dentro das populações variou de 0,075 em AGE a 0,337 em PAN, todos os valores são significativos, $P < 0,00038$ com intervalo de confiança de 95%, indicando que as frequências alélicas não estão seguindo as proporções esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg, ou seja, que está ocorrendo o acasalamento entre indivíduos aparentados. A população da Estação Ecológica de Águas Emendadas (AGE), em área de preservação permanente, apresentou a maior diversidade genética. As outras populações em áreas de preservação permanente, Parque Nacional das Emas (PNE) e APA do Rio Pandeiros (PAN), não apresentaram maior diversidade genética que as demais áreas em fragmentos de matriz agrícola. Entretanto, o coeficiente de endogamia foi maior nas áreas mais afetadas por distúrbios antrópicos quando comparado à área de conservação. A diferenciação entre populações é baixa, porém significativa ($\theta = 0,061$; $P = 0,0005$), ($F = 0,264$, $P = 0,0005$) ($f = 0,216$; $P = 0,0005$). Os valores de θ foram inferiores aos valores de R_{ST} , indicando que os alelos são mais propensos a serem idênticos por estado que por descendência. O modelo de isolamento genético por distância foi testado, correlacionando a matriz de distância genética com a matriz de distância geográfica e se mostrou ineficiente para a divergência encontrada entre as populações. Os acasalamentos não aleatórios dentro e entre as populações, o padrão de distribuição de *T. aurea* em grupos e a polinização a curta distância, provavelmente são os fatores responsáveis pela estrutura genética em *T. aurea*.

Palavras Chave: *Tabebuia aurea*, Cerrado, Microssatélites, Conservação.

ABSTRACT

Tabebuia aurea is a tree widely distributed in the Cerrado and that is subject to the deleterious effects of fragmentation of this biome. In this work, were studied 237 samples from 12 populations of *Tabebuia aurea* based on the variation of 11 microsatellite loci, in order to analyze the genetic diversity and structure and test the causes of differentiation of populations. *Tabebuia aurea* has high genetic diversity in all populations with 379 alleles found an average of 34.4 alleles per locus, the population had an overall average of 11.89 alleles revealing a high information content associated with microsatellite markers. The average values of expected heterozygosity (H_e) and observed (H_o) found for the loci were 0.894 and 0.692 respectively. The inbreeding coefficient within populations ranged from 0.075 to 0.337 at the EGM in PAN, all figures are significant, $P < 0.00038$ with a confidence interval of 95%, indicating that the allele frequencies are not following the expected proportions for balance Hardy-Weinberg equilibrium, namely, what is occurring mating between related individuals. The population of the Ecological Station of Águas Emendadas (AGE), in permanent preservation area, showed the greatest genetic diversity. The other populations in areas of permanent preservation, Emas National Park (ENP) and the APA Rio Pandeiros (PAN), did not show greater genetic diversity than other areas in the agricultural matrix fragments. However, the inbreeding coefficient was higher in areas most affected by human disturbances when compared to the conservation area. The differentiation between populations is low, but significant ($\theta = 0.061$, $P = 0.0005$), ($F = 0.264$, $P = 0.0005$) ($f = 0.216$, $P = 0.0005$). Θ values were lower than those of values R_{ST} , indicating that the alleles are more likely to be identical by descent by state. The pattern of genetic isolation by distance was tested by correlating the genetic distance matrix with the matrix of geographical distance and was inefficient for the discrepancy found between populations. The non-random mating within and between populations, the distribution pattern of *T. aurea* in groups and pollination at short distance, probably are the factors responsible for genetic structure in *T. aurea*.

Keywords: *Tabebuia aurea*, Cerrado, Microsatellite, Conservation.

LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1: Mapa de vegetação do Brasil (adaptado de IBGE 1993) mostrando a área central do bioma do Cerrado.....	20
Figura 2: Indivíduo adulto de <i>Tabebuia aurea</i> (A); folhas (B); folha, caule, fruto e semente (C).....	25
Figura 3: Distribuição geográfica das 12 populações de <i>Tabebuia aurea</i> coletadas no Bioma Cerrado.....	29
Figura 4: Distribuição das frequências alélicas para os 11 locos microssatélites de <i>Tabebuia aurea</i>	36

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Localidades das populações amostradas de <i>Tabebuia aurea</i>	28
Tabela 2: Locus microssatélites desenvolvidos para a espécie <i>Tabebuia aurea</i> ..	32
Tabela 3: Relação dos multiplex formados e as fluorescências utilizadas para cada primer.....	32
Tabela 4: Caracterização dos locos microssatélites baseado nas 12 populações de <i>Tabebuia aurea</i>	35
Tabela 5: Caracterização das 12 populações de <i>Tabebuia aurea</i> baseado em 11 locos microssatélites.....	40
Tabela 6: Estrutura genética das doze populações de <i>Tabebuia aurea</i>	41
Tabela 7: Divergência genética (F_{ST}) par a par entre as 12 populações de <i>Tabebuia aurea</i>	41

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Diversidade e Estrutura Genética de Populações.....	14
1.2. Uso de Marcadores Microsatélites.....	17
1.3. Conservação do Cerrado.....	19
1.4. <i>Tabebuia aurea</i>	24
2. OBJETIVOS.....	27
2.1. Objetivo Geral.....	27
2.2. Objetivos Específicos.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. Amostragem.....	28
3.2. Obtenção dos Dados Moleculares.....	31
3.2.1. Extração de DNA.....	31
3.2.2. Amplificação dos locos Microsatélites.....	31
3.3. Análise Estatística.....	33
3.3.1. Caracterização da Variabilidade Genética.....	33
3.3.2. Estrutura genética entre as populações.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. Caracterização da Diversidade Genética.....	35
4.2. Estrutura genética das Populações.....	40
5. DISCUSSÃO.....	42
5.1. Diversidade Genética.....	42
5.2. Estrutura Genética das Populações.....	45
6. CONCLUSÃO.....	48
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

INTRODUÇÃO

1.1. Diversidade e Estrutura Genética de Populações

A "diversidade biológica" refere-se a todos as formas de vida, com suas múltiplas variedades, que ocorrem na Terra. Isso inclui não só as espécies, mas as raças e populações, as quais possuem seus próprios atributos característicos. A biodiversidade do planeta está sendo rapidamente esgotada como consequência direta e indireta das ações humanas. Um número desconhecido, mas grande de espécies já estão extintas, enquanto muitas outras têm o tamanho populacional reduzido, o que as colocam em risco (MILLER, *et al.*, 1985, FRANKHAM, 2003).

A variabilidade genética – variedade de alelos e genótipos presentes nas populações – é o material bruto sobre o qual a seleção natural atua para permitir a adaptação e evolução dos organismos e sua adequação às mudanças ambientais (HAMRICK, 1983). A perda da diversidade genética reduz o potencial evolutivo e recursos genéticos de uma espécie em programas de melhoramento e para a conservação genética é necessário entender como a variação genética é distribuída e quais as características do ambiente ou da espécie que influenciam esta distribuição (FRANKHAM *et al.*, 2008).

As espécies arbóreas pelo seu grande porte e longevidade, são organismos chaves nos ecossistemas, pois propicia habitats e condições ambientais que suportam centenas de espécies vegetais e animais em um simples hectare. A redução na diversidade genética destas espécies pode reduzir o valor adaptativo, predispondo-as doenças, reduzindo a produtividade e limitando a evolução. Por isso, a variabilidade genética das espécies é fundamental para a sustentabilidade e estabilidade dos ecossistemas (RAJORA; PLUHAR, 2003).

A estrutura genética de populações de uma espécie refere-se à forma como a variabilidade genética é distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma espécie. O estudo da estruturação populacional é baseado na distribuição das frequências genotípicas e alélicas sob a influência de quatro forças evolutivas: seleção natural, deriva gênica, mutação e recombinação. Além dessas forças, existem outros

eventos que influenciam a estrutura genética das populações, tais como migração, endocruzamento e tamanho efetivo populacional (HARTL; CLARK, 1997).

A estrutura pode se manifestar entre distintas populações geográficas, dentro de um grupo local de indivíduos ou mesmo em grupos de progênes e pode ser definida como a distribuição não aleatória de alelos e genótipos (BROWN, 1978). A estrutura genética pode ser demográfica ou temporal. A estrutura genética demográfica refere-se à distribuição espacial dos indivíduos, sendo característica de cada espécie e determinada principalmente pelo sistema de reprodução e pelos padrões de dispersão. A estrutura genética temporal refere-se à subdivisão da diversidade genética entre gerações, como por exemplo, entre pais e filhos, diferentes fases ontogênicas (plântulas e jovens, jovens e adultos), ou ainda pode referir-se às diversas gerações contidas em um banco de sementes ou de germoplasma (LOVELESS; HAMRICK, 1984; HAMRICK, 1987).

O termo “fluxo gênico” é usado para designar todos os mecanismos que resultam em movimentos de genes dentro de uma população e de uma população para outra (SLATKIN, 1987). Enquanto os efeitos de fatores evolutivos como seleção natural, mutação e deriva genética levam a diferenciação dentro e entre populações, o fluxo gênico atua para homogeneizar a variação genética espacial dentro e entre as populações além de introduzir nova variação genética (WRIGHT, 1951; SLATKIN, 1995). Em plantas, o fluxo gênico ocorre pelo movimento de pólen e pela dispersão das sementes e o reconhecimento desses dois estágios de fluxo gênico em plantas é fundamental para a estrutura genética dentro das populações (LEVIN, 1981).

Os conceitos de estrutura populacional hierárquica foram desenvolvidos por Sewall Wright para quantificar diferenças genéticas entre subgrupos a partir dos níveis de heterozigosidade média e sua relação entre e dentro de populações (WRIGHT, 1965). Em estudos de populações naturais, a identificação de estrutura genética e a descrição da diversidade genética dentro e entre populações são em sua maioria realizadas a partir da utilização das chamadas “estatísticas F” de Wright, (WRIGHT, 1951) F_{IS} , F_{ST} e F_{IT} , sendo considerada a medida mais eficiente para avaliar a estrutura de populações (HOLSINGER; WEIR, 2009).

Esses coeficientes são baseados nos níveis de heterozigosidade presente nos três níveis hierárquicos de uma estrutura populacional: o indivíduo, a subpopulação e a população total. Usando uma abordagem diferente, Cockerham (1969) descreveu medidas de diferenciação análogas aos coeficientes de Wright (f , θ e F), baseadas na análise de variância das frequências alélicas. Em suma as definições de Wright para esses coeficientes são: F_{IS} ou f mede a correlação entre a frequência de alelos dentro de indivíduos em relação à subpopulação a que pertencem; F_{ST} ou θ mede a correlação entre a frequência de alelos entre os indivíduos dentro de subpopulações e reflete o nível de diferenciação genética entre elas; F_{IT} ou F mede a correlação entre a frequência de alelos dentro de indivíduos, considerando todos os indivíduos da população total (WRIGHT, 1951; HOLSINGER; WEIR, 2009).

A quantidade de diferenciação genética entre populações tem uma íntima relação com as taxas de importantes processos evolutivos como mutação, migração e deriva genética, como demonstrado por Wright (1931). Por exemplo, grandes populações entre as quais há uma grande taxa de migração tendem a apresentar pouca diferenciação, enquanto pequenas populações entre as quais há pouca migração tendem a ser altamente diferenciadas. F_{ST} é uma medida conveniente da diferenciação genética e por isso, as “Estatísticas F” estão entre as estatísticas descritivas mais utilizadas em genética de populações. O F_{ST} está diretamente relacionado à variação na frequência dos alelos entre as populações e ao grau de semelhança entre os indivíduos dentro das populações, ou seja, um valor baixo significa que as frequências alélicas são semelhantes entre as populações e um valor alto indica que as frequências alélicas são diferentes entre as populações (HOLSINGER; WEIR, 2009).

A genética da conservação se baseia no uso da teoria e das técnicas da genética para reduzir o risco de extinção das espécies ameaçadas e preservar a biodiversidade. A perda de variabilidade genética é o tema central na genética da conservação, pois populações pequenas (especialmente de espécies alógamas) que ocorrem em áreas fragmentadas podem sofrer depressão por endogamia, levando à perda de heterozigosidade, diversidade genética e adaptabilidade (FRANKHAM *et al.*, 2008; ELLSTRAND; ELAM, 1993; AVISE, 1994).

1.2. Uso de Marcadores Microssatélites

Há uma grande amplitude de ferramentas passíveis de serem utilizadas em trabalhos de caracterização de diversidade genética, como os marcadores moleculares baseados em isoenzimas, RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e microssatélites (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Marcadores microssatélites possuem todas as características desejáveis para serem utilizados em estudos de genética de populações, como o alto nível de polimorfismo e herança codominante o que permite a distinção entre homozigotos e heterozigotos (POWELL, *et al.*, 1996). São altamente informativos, são baseados em PCR, necessitando de baixa quantidade de DNA e não requerem radioatividade. Além disso, microssatélites desenvolvidos para uma espécie podem ser utilizados em outras espécies taxonomicamente mais próximas, uma vez que as regiões franqueadoras complementares aos primers são frequentemente conservadas entre espécies (BROWN *et al.*, 1996).

As regiões microssatélites são constituídas por sequências curtas de DNA repetitivo, com 1 a 6 pares de bases (motivos) repetidas várias vezes de maneira idêntica e adjacente (repetição em tandem). As sequências de DNA que flanqueiam microssatélites são conservadas, o que permite a seleção de *primers* para a sua amplificação via PCR. O polimorfismo é baseado nas diferenças de comprimento das sequências devido a diferença no número de motivos repetidos (LITT; LUTY, 1989; WEBER; MAY, 1989; TAUTZ, 1989).

Os microssatélites estão entre os mais variados tipos de sequência de DNA no genoma. Em contraste com DNA único, o polimorfismo de microssatélites resulta principalmente de variabilidade no comprimento do que na sequência principal. A variação genética em locos microssatélites é caracterizada pela alta heterozigosidade e a presença de alelos múltiplos. Com o advento da PCR no final de 1980, a análise e genotipagem de polimorfismos de microssatélites tornou-se evidente. Microssatélite tornou-se rapidamente o marcador de escolha para o mapeamento genético e, posteriormente, também para estudos de genética de populações e áreas afins (ELLEGREN, 2004).

Os marcadores microssatélites que são classificados como perfeitos, não possui a sequência de repetição interrompida por nenhuma base diferente das que compõem seu motivo (por exemplo, TATATATATATATATA) enquanto que nos imperfeitos verifica-se uma ou mais bases diferentes entre os motivos de repetição (por exemplo, TATATATACTATATA). Os compostos são formados por sequências repetitivas adjacentes com diferentes composições de motivos (por exemplo, TATATATATAGTGTGTGTGT) (WEBER, 1990).

O polimorfismo de tamanho apresentado pelas regiões microssatélites é devido a altas taxas de mutação em relação a outras regiões do DNA. Essa taxa é estimada em 10^{-2} a 10^{-3} por loco por gametas por geração, mas tende a ser altamente variável entre espécies (WEBER; WONG, 1993; ELLEGREN, 2000). Devido à alta taxa de mutação, é de se esperar que o DNA codificante tenha uma baixa densidade de microssatélites, já que profundas transformações implicariam em uma perda de funcionalidade das proteínas a serem codificadas (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a alta taxa de mutação dos microssatélites, como erros durante a recombinação, *crossing-over* desigual e a mutação *slippage*, que parece ser o mecanismo mais provável para explicar o polimorfismo de tamanho encontrado nos microssatélites, que é o mecanismo de derrapagem da DNA polimerase (*slippage*), que ocorre durante a replicação do DNA e que pode ser o mecanismo pelo qual as sequências simples repetitivas foram formadas pela primeira vez (LEVINSON & GUTMAN, 1987; SCHLOTTERER; TAUTZ, 1992; ELLEGREN, 2000). A derrapagem da DNA polimerase refere-se à dissociação que pode ocorrer entre a fita molde e a fita nascente de DNA durante a replicação e que pode provocar um realinhamento errado pela formação de um “laço” em qualquer uma das fitas. Desse modo a DNA polimerase continua a alongar a nova fita com um erro de pareamento de bases, com perda no número de repetições se o laço se formar na fita molde ou um ganho de repetições se o laço se formar na fita nascente (ELLEGREN, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Os modelos propostos para explicar o mecanismo de mutação dos microssatélites são o modelo de mutação *stepwise* (SMM – *Stepwise Mutation Model*), onde é assumido que a mudança no estado alélico ocorre pela perda ou ganho de uma unidade de repetição (OHTA; KIMURA, 1973), e o modelo de alelos infinitos

(KIMURA & CROW, 1964), que considera que cada novo alelo mutante é um novo estado alélico não existente anteriormente na população (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A variabilidade de microssatélites é amplamente utilizada para inferir níveis de diversidade genética em populações naturais. A taxa de mutação elevada dos microssatélites os torna particularmente útil para estimar os níveis de diversidade genética (VÄLI *et al.*, 2008).

Vários trabalhos foram publicados sobre o desenvolvimento de marcadores microssatélites para espécies de plantas do Cerrado que contribuem para maior conhecimento, utilização e conservação das espécies, tais como: para *Caryocar brasiliense* (COLLEVATTI *et al.*, 1999), para *Tabebuia aurea* (BRAGA *et al.*, 2006), para *Annona Crassiflora* (PEREIRA *et al.*, 2008) e para *Tibouchina papyrus* (TELLES, *et al.*, 2011).

Os marcadores microssatélites, por serem codominantes, multialélicos, abundantes e bem distribuídos ao longo do genoma, são eficientes para avaliar a variabilidade genética em populações naturais e podem auxiliar os estudos e a conservação da biodiversidade, pois são capazes de estimar os níveis de heterozigosidade e relacioná-los com parâmetros importantes na sobrevivência das espécies; analisar estruturas familiares, o efeito da reprodução sexuada na população; estimar o tipo de distribuição espacial e temporal das populações em relação ao fluxo gênico, quantificar os efeitos da fragmentação de habitats e serve como guia de estratégia de conservação (EPPERSON, 1990; SOLE-CAVA, 2001; COLLEVATTI *et al.*, 2001a; 2001b).

1.3. Conservação do Cerrado

O Brasil, que contém mais de 13% da biota mundial é considerado um país megadiverso. Com cinco importantes biomas e o maior sistema fluvial do mundo, o Brasil, indiscutivelmente, tem a mais vasta biota continental da Terra. O Brasil também contém dois *hotspots* de biodiversidade, o Cerrado e a Mata Atlântica e a maior área

úmida tropical do mundo, o Pantanal (MITTERMEIER *et al.*, 1997; BRANDON *et al.*, 2005).

O Cerrado ocupa a porção central do Brasil e engloba parte dos estados da Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Piauí, São Paulo e Tocantins, além do Distrito Federal (Figura 1). O domínio do Cerrado ocorre desde o Amapá e Roraima, até o Paraná, em sentido latitudinal, enquanto que, em sentido longitudinal ocorre desde Pernambuco, Alagoas e Sergipe até o Pará e o Amazonas. Os estados do Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo possuem a menor área de cobertura vegetal natural por bacia, enquanto que a região Norte do Cerrado possui as áreas com os maiores índices de vegetação natural. O Cerrado tem como biomas adjacentes a Mata Atlântica, a Caatinga, a Floresta Amazônica e o Pantanal que, pela proporção de ecótonos (áreas de transição que abrigam grande diversidade de espécies), também colaboram na enorme diversidade biológica do bioma (SANO *et al.*, 2008; PEREIRA, 2007; COUTINHO, 2009).

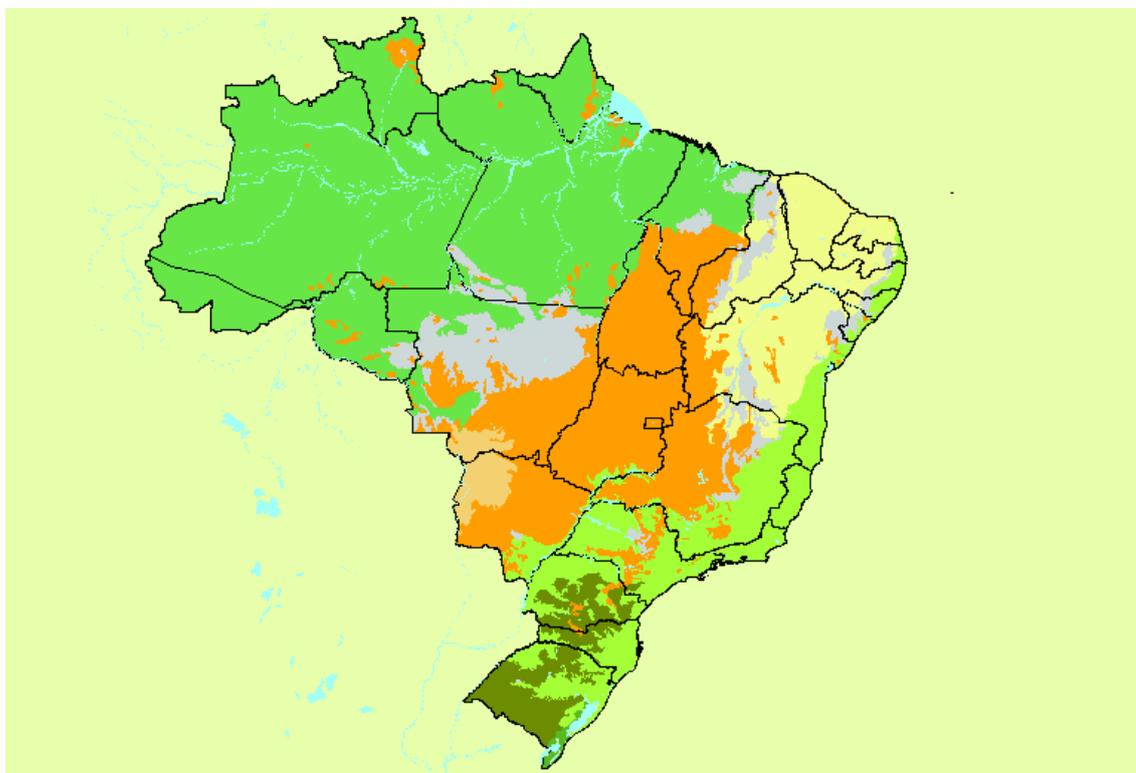


Figura 1: Mapa de vegetação do Brasil (adaptado de IBGE, 1993) mostrando a área central do bioma do Cerrado e encraves em outros biomas (na cor laranja) e as áreas de transição existentes nas áreas de contato dos biomas (na cor cinza).

Fonte: MACHADO *et al.*, 2004a.

O Cerrado possui a mais rica flora dentre as savanas do mundo (>7.000 espécies de plantas), com alto nível de endemismo. A riqueza de espécies de aves, peixes, répteis, anfíbios e insetos é igualmente grande, embora a riqueza de mamíferos seja relativamente pequena. O número de espécies arbóreas e arbustivas em vegetação de savana, como (Cerrado *sensu stricto*) é superior a 800, quase 40% dos quais são endêmicas. Nos últimos 35 anos mais da metade dos 2 milhões de Km² originais do Cerrado foram cultivados com pastagens plantadas e culturas anuais (RATTER *et al.*, 1997; KLINK; MACHADO, 2005).

A grande diversidade de espécies de animais e plantas do Cerrado também está associada com a não menos desprezível diversidade de ambientes. No Cerrado a heterogeneidade espacial (a variação dos ecossistemas ao longo do espaço) é considerado um fator determinante para a ocorrência de um variado número de espécies. Os ambientes do Cerrado variam significativamente no sentido horizontal, sendo que áreas campestres, capões de mata, florestas e áreas brejosas podem existir em uma mesma região (MACHADO *et al.*, 2004a). A vegetação do Cerrado apresenta fisionomias que englobam formações florestais, savânicas e campestres. Além disto, a fertilidade e drenagem do solo, o relevo, as flutuações climáticas incluindo precipitações sazonais, os afloramentos rochosos e a presença do fogo são os elementos abióticos que mais contribuem para a caracterização do Cerrado (PEREIRA, 2007).

O Cerrado ocorre em altitudes que variam de aproximadamente 300m, na Baixada Cuiabana (MT), a mais de 1.600m na Chapada dos Veadeiros (GO). Além do clima, caracterizado pela presença de invernos secos e verões chuvosos, influenciaram na distribuição da flora alguns efeitos devido ao solo (química e física do solo, disponibilidade de água e nutrientes), a geomorfologia e a topografia, a latitude, a frequência das queimadas, a profundidade do lençol freático, o pastejo e inúmeros fatores antrópicos, como a abertura de áreas para agricultura, extração de madeira, manejo de pastagem, dentre outros (EITEN, 1972, 1982, 1994; RIBEIRO; WALTER, 1998).

A umidade do solo é outro fator que pode afetar a fisionomia do Cerrado, como essa vegetação, em sua maioria é restrita a solos que são bem drenados durante todo o ano, comumente mostra fisionomia acentuada e as alterações florísticas a medida

que se aproxima de pastagens alagadas. Onde cerrados interfluviais estão cercados por veredas, é comum observar um declínio na altura média de árvores e um aumento da densidade de plantas lenhosas em direção às margens do cerrado, onde ocorre uma comunidade distinta de espécies de árvores do cerrado mais resistente à saturação do solo. *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook. F. ex S. Moore (Bignoniaceae) é uma das espécies de árvores que toleram a saturação do solo e são comumente encontrados nestas comunidades às margens do cerrado (RATTER *et al.*, 1973; OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 1989).

Em função de suas boas condições de topografia, tipo de terreno e facilidade de desmatamento, o Cerrado representa a principal região brasileira produtora de grãos e gado de corte do Brasil. Com a ocupação das terras do Cerrado para a produção agrícola, as áreas nativas foram sendo removidas em uma escala acelerada nas últimas décadas. As taxas de desmatamento no Cerrado têm sido historicamente superiores às da floresta Amazônica e o esforço de conservação do bioma é muito inferior ao da Amazônia: apenas 2,2% da área do Cerrado encontram-se legalmente protegida. Estima-se que 20% das espécies animais e vegetais ameaçadas de extinção ou endêmicas não ocorram nas áreas legalmente protegidas (AGUIAR, *et al.*, 2004; KLINK; MACHADO, 2005).

Apesar de alta biodiversidade e endemismo, este bioma tem sido fragmentado devido à expansão agrícola, resultando em "ilhas" de habitat selvagem rodeado por um "oceano" de culturas e comprometer a viabilidade das espécies. A manutenção de populações não isoladas, em muitas e grandes áreas preservadas podem ser necessárias para a viabilidade das espécies no bioma Cerrado, fornecendo meios para o fluxo gênico via pólen e sementes. Além disso, estas áreas desempenham um papel importante na manutenção de pequenas populações em áreas altamente perturbadas, como fonte de pólen e sementes e para contribuir com a viabilidade das populações de polinizadores e dispersores (COLLEVATTI *et al.*, 2001b; COLLEVATTI *et al.*, 2010).

A fragmentação do Cerrado provoca a diminuição no tamanho das populações e isolamento entre elas, podendo comprometer a persistência, em longo prazo, de muitas espécies desse bioma (ELLSTRAND; ELAM, 1993). A alteração destas áreas pode reduzir a variabilidade genética através do efeito fundador, ou efeito gargalo. A deriva

genética e o fluxo gênico restrito provocam um acréscimo na endogamia promovendo um aumento da divergência genética entre as populações. A endogamia pode levar à fixação de alelos deletérios, colocando em risco de extinção determinadas populações presentes neste habitat (GILPIN; SOULÉ, 1986; YOUNG *et al.*, 1996).

Devido à grande quantidade de cobertura vegetal original do Cerrado que está sendo perdida, existe uma urgência em implementar planos viáveis para a definição de áreas de conservação no sentido de preservar a biodiversidade deste bioma. Embora existam várias formas de se promover a proteção da biodiversidade, a criação de unidades de conservação corresponde a mais básica e efetiva forma de se alcançar esse objetivo. Mesmo as unidades de conservação deficientes de implantação e manejo são mais efetivas na conservação do que as áreas não protegidas. Entretanto, a disputa pelo espaço e o uso não planejado dos recursos naturais têm gerado grandes conflitos entre a conservação da biodiversidade e a área necessária para uso da população humana (BRUNER *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2004b; DINIZ-FILHO *et al.*, 2007).

Embora nas últimas décadas houvesse um crescente interesse no estudo do Cerrado brasileiro, que é extremamente rico em biodiversidade e altamente ameaçado pelo desenvolvimento da agricultura, o conhecimento sobre esse bioma é bastante incompleto e a necessidade para o estudo das espécies de árvores, visando a sua preservação e exploração econômica racional, tornou-se evidente nos últimos anos, com especial atenção para os níveis de variação genética (RATTER *et al.* 1996; NEWTON *et al.* 1999).

Sobre a diversidade, estrutura genética e sistema de cruzamento de plantas do Cerrado podem ser citados os trabalhos com *Annona crassiflora* (TELLES *et al.*, 2003a), com *Eugenia dysenterica* (TELLES *et al.*, 2003b), e com *Dipteryx alata* (SOARES *et al.*, 2008), para *Caryocar brasiliense* (COLLEVATTI *et al.*, 2001a; 2001b), para *Eugenia dysenterica* (ZUCCHI, 2003), para *Solanum spp.* (MOURA *et al.*, 2009), para *Tibouchina papyrus* (TELLES *et al.*, 2010) e comparando diversas espécies de árvores do Cerrado (COLLEVATTI *et al.*, 2010).

1.4. *Tabebuia aurea*

A família Bignoniaceae está entre as dez famílias mais diversas de plantas lenhosas das florestas úmidas da região Neotropical. Entretanto, a família é especialmente diversa em Florestas Estacionais Semidecíduais e Decíduais. A América tropical apresenta cerca de 600 espécies, dessa forma, a família Bignoniaceae pode ser considerada como um modelo apropriado para o estudo da evolução da diversificação que deu origem a incrível diversidade de espécies nas comunidades de plantas nos trópicos (GENTRY, 1986; GENTRY, 1990).

Estudos da biologia reprodutiva de Bignoniaceae mostraram que os diferentes padrões de morfologia floral que esta família apresenta, estão associados aos de dispersores de pólen (morcegos, beija-flores, mariposas, borboletas e abelhas). Outros estudos mostraram que esta família possui vários padrões fenológicos de floração, concluindo que a alta diversidade dessas espécies parece estar relacionada aos diferentes padrões fenológicos apresentados (GENTRY, 1974a; 1974b, 1976).

Etimologicamente, *Tabebuia*, do tupi, significa pau que flutua ou formiga; *Aurea* em função das flores douradas; *Caraíba*, do tupi, *kara'ib*, é arbusto sábio, inteligente, sagrado. Na medicina popular, o Paratudo ou Caraíba fornece chá da casca e das raízes como expectorante, antisséptico e também para gripes. Além disso, constitui importante fonte de recurso para diversas espécies de animais, como papagaios, veado, bugio, jacutinga, aracuã, que comem as flores, folhas e frutos e utilizam ocos em troncos para nidificar (ALMEIDA *et al.*, 1998; SILVA JÚNIOR, 2005).

Tabebuia aurea (Silva Manso) Benth & Hook. f. ex S. Moore, Bignoniaceae, é popularmente conhecida como caraíba, caraibeira, para-tudo, caroba-do-campo, ipê-amarelo-do-cerrado (Figura 2). Essa é uma espécie de ampla distribuição no território brasileiro, ocorrendo no Cerrado sentido restrito e cerradão, no Distrito Federal e nos estados do Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Pernambuco, Piauí, Paraná, Roraima, São Paulo e Tocantins. Pode ocorrer de maneira esparsa em terrenos bem drenados no Cerrado e, em agrupamentos quase homogêneos em solos muito úmidos ou até pantanosos no Pantanal e na Caatinga (LORENZI, 2002).



Figura 2: Indivíduo adulto de *Tabebuia aurea* (A);
folhas (B); folha, caule, fruto e semente (C).

Fonte: Fernando Camargo

As espécies do gênero *Tabebuia* apresentam padrão de floração do tipo “big bang” (floração simultânea intra e inter-indivíduo, por um período curto) ou cornucópia (floração simultânea intra e inter-indivíduo, porém por um período mais longo). *Tabebuia aurea* floresce massiva e sincronicamente, por aproximadamente um mês, durante a estação seca (julho a setembro). Possui antese diurna, corola tubular, é

produtora de néctar e polinizada por abelhas principalmente dos gêneros *Centris* e *Bombus* (GENTRY, 1974; BARROS, 2001).

Tabebuia aurea é uma espécie lenhosa típica do cerrado que apresenta características de espécie indicadora para conservação. Suas características biológicas e de reprodução já foram relativamente bem estudadas, de forma que o conhecimento prévio sobre a ecologia da espécie é considerável. Sua ampla distribuição pelo Cerrado é interessante por possibilitar comparações inter-regionais. É susceptível aos efeitos da fragmentação de habitat, pois sua densidade populacional é afetada por ações antrópicas na vegetação natural. Seu valor econômico também é bastante considerável, pois é utilizada como melífera, ornamental, medicinal e sua madeira é empregada para vários fins (ALMEIDA, *et al.*, 1998).

O interesse deste trabalho é conhecer a diversidade e a estrutura genética de populações de *T. aurea* em áreas de conservação e áreas fragmentadas do Cerrado, a fim de gerar informações úteis para traçar possíveis estratégias de conservação. Nossa hipótese de trabalho foi que as populações serão pouco diferenciadas devido ao potencial de dispersão de pólen à longa distância e que as populações de áreas fragmentadas possuem menor diversidade genética e maiores níveis de endogamia do que as áreas de conservação.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar e comparar a variabilidade genética e avaliar a estrutura genética em populações de *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae) no Cerrado.

2.2. Objetivos Específicos

- Descrever e comparar a diversidade genética em doze populações de *Tabebuia aurea* baseado em um conjunto de locos microssatélites.
- Descrever e comparar as estimativas de endogamia para as populações em áreas de conservação e fragmentadas.
- Descrever a estrutura genética das populações de *Tabebuia aurea*
- Analisar o papel da fragmentação atual na estrutura genética das populações de *Tabebuia aurea* dando subsídios para a conservação das espécies e do cerrado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostragem

Para o presente estudo foram amostrados indivíduos de *T. aurea* em doze populações listadas na Tabela 1. As coletas das populações para a extração do DNA e para a análise da diversidade genética de 12 populações foram realizadas em algumas regiões da distribuição geográfica de *T. aurea*, sendo três áreas de preservação permanente do Cerrado e nove áreas altamente fragmentadas. Procurou-se amostrar todos os indivíduos (jovens e adultos) encontrados em cada localidade e foram coletados até 30 indivíduos.

Tabela 1: Localidades das populações amostradas de *Tabebuia aurea*.

POPULAÇÃO	LOCALIDADE	N	COORDENADAS
1 - AGE	Águas Emendadas - DF	30	S15 35 04.7 W47 39 59.7
2 - ARA	Fazenda Araguaia - TO	12	S11 33 43.9 W49 48 15.9
3 - BAG	Barra do Garças - MT	26	S15 00 47.3 W51 16 41.7
4 - BAR	Barreiras - BA	14	S12 05 06.3 W45 26 50.8
5 - BOD	Serra da Bodoquena - MS	21	S20 35 59.2 W56 00 12.4
6 - CAR	Cáceres - MT	19	S16 08 23.7 W57 59 19.8
7 - FAT	Fátima - TO	22	S10 48 20.8 W48 54 22.9
8 - PAN	Pandeiros - MG	19	S15 30 53.6 W44 41 32.5
9 - POT	Portelândia - GO	16	S17 19 31.6 W52 42 17.1
10 - PNE	Parque Nacional das Emas - GO	14	S17 54 43.2 W52 21 08.9
11 - SUM	Sumidouro/Lagoa Santa - MG	14	S19 17 01.5 W43 37 59.6
12 - VIB	Vila Boa - GO	30	S15 00 46.0 W47 02 32.9

A Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE) é uma área de preservação permanente do Cerrado, possui 10.547,21 hectares (Decreto nº 11.137 de 16/06/88) e está situada na região de Administrativa VI, Planaltina, nordeste do Distrito Federal, onde foram coletadas 30 amostras. A estação que está sob a responsabilidade da Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos – SEMARH e é considerada uma das Unidades de Conservação mais estudadas do Brasil (BRAZ; CAVALCANTE, 2001). A vegetação e flora da ESECAE tem sido objeto de vários estudos que constataram que esta é uma unidade de conservação rica e diversa, muito representativa da flora do Cerrado *stricto sensu* do Distrito Federal e do bioma. Esta grande diversidade foi relacionada, por Felfili (1998), à sua posição geográfica, permeada por

nascentes das bacias do Tocantins /Araguaia e do Paraná (MAURY *et al.*, 1994; SILVA JÚNIOR; FELFILI, 1998) (Figura 3).

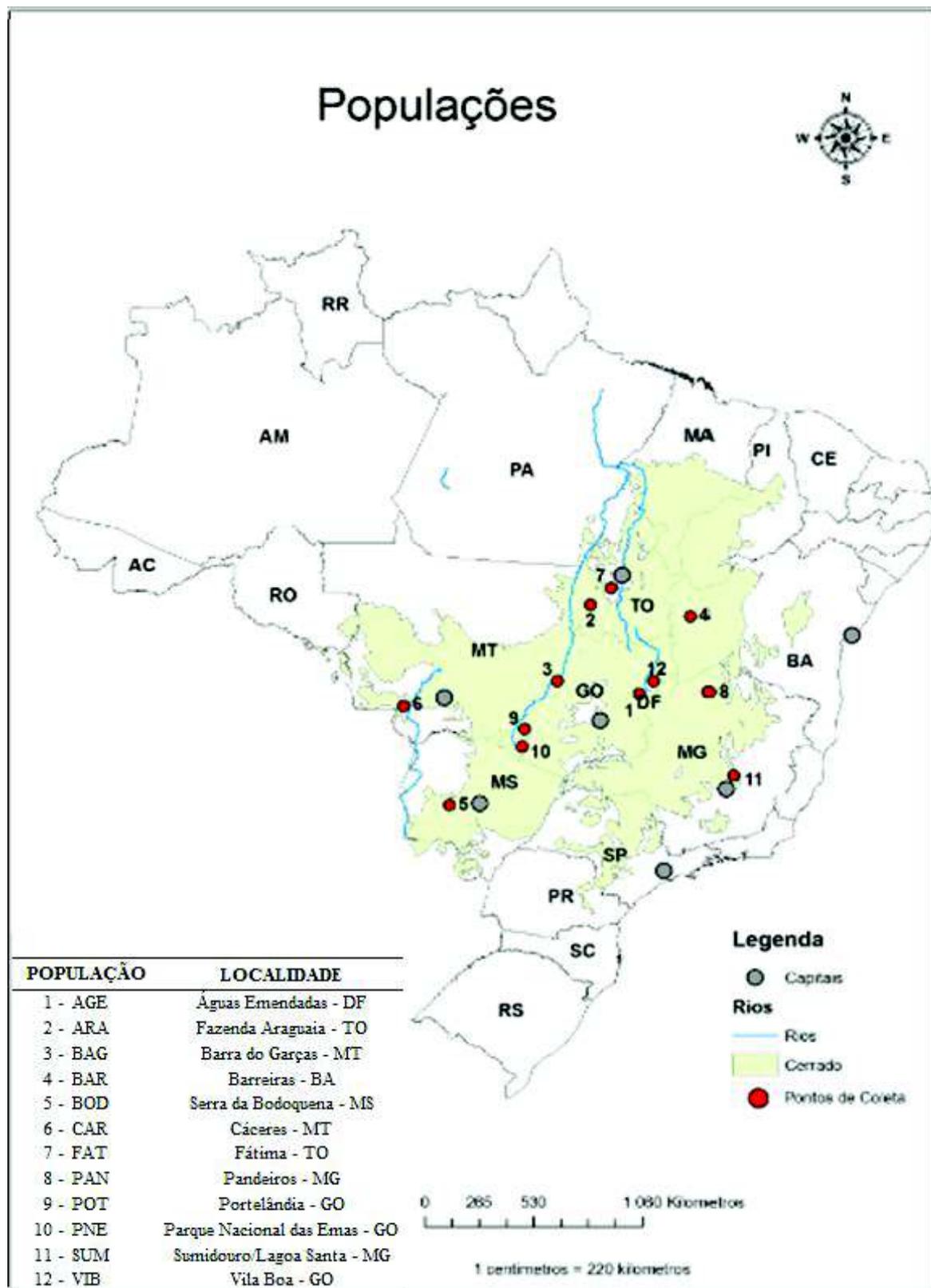


Figura 3: Distribuição geográfica das 12 populações de *T. aurea* coletadas no Bioma Cerrado.

Fonte: Galileu Morgado da Silva - Instituto de Estudos Sócio-Ambientais – UFG, 2011.

No Parque Nacional das Emas, área de preservação permanente do Cerrado, foram coletadas 14 amostras. Esta é uma área que possui mais de 131.800 ha e está localizado no extremo sudoeste do Estado de Goiás, próximo às divisas com o Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Representa uma das mais importantes unidades de conservação do Cerrado, devido a sua extensão, integridade de habitats, riqueza faunística, presença de espécies raras e ameaçadas de extinção. O parque está incluído nas ações prioritárias para Conservação da Biodiversidade do Cerrado e Pantanal como área de importância biológica extremamente alta (IBAMA, 1989). Parque Nacional das Emas (PNE) localiza-se na região sudoeste do Estado de Goiás, com mais de 130 mil hectares, principal área preservada do Cerrado brasileiro e reserva. Apesar de sua importância, ele enfrenta uma série de problemas, entre os quais a contaminação de seus rios pelos agrotóxicos lançados pelas fazendas de soja vizinhas, o atropelamento de animais nas estradas que o circundam e os incêndios criminosos que frequentemente destroem sua vegetação (NEIMAN, 1989).

Na APA Estadual do Rio Pandeiros, área de preservação permanente, foram coletadas 19 amostras. Esta área pode ser destacada pela grande ocorrência de veredas. O rio Pandeiros, afluente do rio São Francisco, teve sua APA, criada em setembro de 1995 (IEF, 2008), abrangendo os municípios de Januária, Bonito de Minas e Cônego Marinho no Norte de Minas Gerais, com ocorrência em uma área de transição entre os biomas Caatinga e Cerrado. A APA do Rio Pandeiros é formada por diversos afluentes de curta duração ou permanentes, cujo abastecimento está diretamente ligado às veredas, que se localizam, especialmente, ao longo do médio rio Pandeiros (IGA, 2006).

As outras nove áreas amostradas eram bastante fragmentadas, e com alto nível de distúrbio antrópico. A localidade de Fazenda Araguaia em Tocantins, no Pantanal do Araguaia, em área alagada entre os rios Formoso e Araguaia foram coletadas 12 amostras. Em Barra do Garças, no Mato Grosso, foram coletadas 26 amostras em área alagável do rio Araguaia. Barreiras, no Oeste da Bahia, é um importante pólo agropecuário em região de chapada onde predomina vegetação de cerrado *sensu stricto*. Nessa localidade foram coletadas amostras de 14 indivíduos. Na região próxima a Serra da Bodoquena, no Mato Grosso do Sul, foram coletadas 21 amostras em área de cerrado *sensu stricto* em solo bem drenado. Em Cáceres, no Pantanal Matogrossense, Mato

Grosso, foram coletadas 19 amostras em área alagável. Em Fátima no Tocantins, situada à esquerda da bacia do rio Tocantins, foram coletadas 22 amostras em vegetação de cerrado. Em Vila Boa, limite leste do Pantanal goiano no vale do rio Paranã, foram coletadas 30 amostras em área alagável. Em Portelândia, no Sudoeste de Goiás, em Cerrado de afloramento de arenito, área bastante fragmentada cercada por pastagem e lavoura, foram coletadas 16 amostras. Em Lagoa Santa, MG, foram coletadas 14 amostras em cerrado contínuo com a Floresta Estacional Semidecidual em afloramento de arenito (Figura 3).

3.2. Obtenção dos Dados Moleculares

3.2.1. Extração de DNA

O DNA genômico total das amostras de *Tabebuia aurea* foi extraído de folhas expandidas de acordo com o protocolo de extração proposto por DOYLE & DOYLE (1987) e descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998) utilizando o CTAB (*Cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide*) como detergente do tampão de extração. Depois de extraído, o DNA foi quantificado em eletroforese em gel de agarose 1%, utilizando como padrão o marcador de peso molecular λ DNA de 50, 100 e 200ng/ μ L e diluído a uma concentração de cerca de 3ng/ μ L.

3.2.2. Amplificação dos locos Microsatélites

Foram utilizados onze pares de primers para amplificação dos locos de *T. aurea* (Tabela 2). Para as reações em cadeia da polimerase (PCR), de volume total de 10 μ L, foram utilizados os seguintes reagentes: 9,0 ng de DNA, 5 μ M de cada primer (*forward/reverse*), 1 unidade de Taq DNA polymerase (Phoneutria), 2,5 μ M de dNTP, 10 μ M de tampão (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂), 5 mg de BSA, 5 μ M de MgCl₂ e 1,7 μ L de água Milli-Q. As amplificações foram realizadas em termocicladores Gene Amp PCR System 9700 Applied Biosystems sobre as seguintes condições: 95°C por 5 min (1 ciclo), 95°C por 1 min, 56°C por 1 min (temperatura de

anelamento de todos os primers), 72°C por 1 min (35 ciclos); e 72°C por 30 min (1 ciclo).

Tabela 2: Locos microssatélites desenvolvidos para a espécie *Tabebuia aurea* (Braga *et al.* 2006) e utilizados neste trabalho.

Loco	Repetição do motivo	Classificação	Tamanho (pb)	Ta (°C)
Tau 12	(TC)8(TA)(TG)29	Composto	180	56
Tau 13	(TC)22(ACTCCC)(TC)4(AC)11	Imperfeito	120	56
Tau 14	(CT)3(TCC)(CT)20	Imperfeito	168	56
Tau 15	(AG)32	Perfeito	151	56
Tau 16	(CT)33(CA)11	Composto	234	56
Tau 17	(GA)7(GC)(GA)3(GC)5(AG)21(GGGAGG)(GA)7	Imperfeito	222	56
Tau 21	(GA)26	Perfeito	238	56
Tau 24	(GA)33	Perfeito	188	56
Tau 27	(CT)24(CA)8(CC)(CA)7	Composto	212	56
Tau 28	(CT)33	Perfeito	186	56
Tau 31	(CT)28(CA)10(CTT)(GT)5	Imperfeito	265	56

Nome dos locos, repetições dos motivos, classificação segundo Weber (1990), tamanho do alelo em pares de bases e a temperatura de anelamento.

As reações de amplificação foram feitas em sistemas simples, onde as amostras foram amplificadas com um par de primer de cada vez. A verificação da amplificação do DNA foi feita através de eletroforese em gel de agarose a 3% de concentração, utilizando 2 µL do produto da amplificação, 4 µL de tampão de carregamento e 3 µL do marcador 1 Kb DNA Ladder. Verificada a amplificação da amostra através da intensidade das bandas, avaliava-se a necessidade de diluição e estimava-se a concentração da diluição para a genotipagem das amostras. Em seguida, as amostras foram distribuídas em placas para genotipagem, diluídas e misturadas para a formação dos sistemas multiplex de genotipagem, desenvolvidos por Braga *et al.*, 2006, combinando *primers* fluorescentes de diferentes cores (Tabela 3).

Tabela 3: Relação dos multiplex formados e as fluorescências utilizadas para cada primer: 6FAM(azul), HEX(verde) e NED(amarelo) (Applied Biosystems,CA).

Multiplex 01	Multiplex 02	Multiplex 03	Multiplex 04
Tau 12 (6-FAM)	Tau 15 (6-FAM)	Tau 28 (6-FAM)	Tau 21 (6-FAM)
Tau 16 (HEX)	Tau 13 (HEX)	Tau 24 (HEX)	Tau 31 (NED)
Tau 17 (NED)	Tau 14 (NED)	Tau 27 (NED)	

Os *primers* foram marcados com fluorescência (6-FAM, azul; HEX, verde e NED, amarelo) (Applied Biosystems, CA), desenvolvidos a partir de uma biblioteca genômica enriquecida para a sequência repetida de dinucleotídeos AG/TC (BRAGA *et al.*, 2006). As amostras submetidas à análise no sequenciador automático de DNA ABI-3100 (Applied Biosystems) consistiram de um volume final de 10 μ L contendo: 1 μ L do produto da reação de amplificação, 0,5 μ L de marcador de tamanho conhecido (*ladder*) marcado com fluorocromo ROX, e 8,5 μ L de formamida Hi-Di (Applied Biosystems). Essa mistura foi submetida à desnaturação por 5 minutos a 95°C, seguida resfriamento imediato a 0°C e submetida à análise pelo sequenciador ABI-3100 para obtenção dos genótipos.

Após a eletroforese no sequenciador automático, os projetos foram analisados pelo programa *Genemapper 3.5* (Applied Biosystems) para a visualização dos genótipos. Como os marcadores microssatélites utilizados neste trabalho apresentam motivos de dinucleotídeo foi preciso um critério de arredondamento com intervalos em pares de bases pré-estabelecidos (Bin) para a determinação dos genótipos, onde a variação dos alelos ocorreu a cada dois pares de bases e os alelos foram números pares.

3.3. Análise Estatística

3.3.1. Caracterização da Variabilidade Genética

A partir da matriz dos genótipos de locos microssatélites foram estimados os parâmetros genéticos de utilizando o programa Arlequin 3.11 (EXCOFFIER, 2007). Por meio deste programa foram calculados a heterozigosidade média observada (H_o), a heterozigosidade esperada (H_e) conforme equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1975), que constitui uma estimativa da diversidade genética.

A riqueza alélica é uma medida de variação genética do número médio de alelos, independente do tamanho da amostra, o que permite comparar amostras com diferentes tamanhos. A riqueza alélica (R_s) foi calculada com o programa FSTAT 2.9.3.2 (GOUDET, 1995).

Com base nas estimativas das heterozigosidades esperadas (H_e) e observadas (H_o) foi calculado o índice de fixação ou coeficiente de endogamia (f) para cada loco, como medida da deficiência ou excesso de heterozigotos.

3.3.2. Estrutura genética entre as populações

Os coeficientes de Wright (1951) (θ , F e f) foram estimados conforme proposto por Weir & Cockerham (1984), pela análise de variância das frequências alélicas utilizando o programa FSTAT (GOUDET, 2002). A significância estatística desse teste foi obtida a partir de randomizações e foi utilizada a correção de Bonferroni (GOUDET, *et al.* 1995).

A diferenciação genética entre as populações também foi estimada pelo R_{ST} (SLATKIN, 1995), através do programa SPAGeDi (HARDY; VEKEMANS, 2002) com as estimativas da média e do erro padrão por jackknife. O R_{ST} pode ser interpretado como a correlação entre o tamanho de alelo dos diferentes indivíduos na mesma população e considera o modelo *stepwise mutation*, em que a maioria das mutações que ocorrem em marcadores microssatélites envolve a adição ou subtração de uma unidade de repetição (OHTA; KIMURA, 1973; VALDES *et al.*, 1993). Ele é análogo ao θ , com a ressalva de que para θ a correlação entre as frequências alélicas de diferentes indivíduos da mesma população considera um modelo de infinitos alelos (COCKERHAM 1969, WEIR; COCKERHAM, 1984).

Para testar a hipótese de "isolamento por distância" uma matriz linearizada de F_{ST} par a par foi obtida por AMOVA utilizando o software Arlequin (SCHNEIDER *et al.*, 1997) e correlacionadas com uma matriz de distância geográfica (com distâncias variando de 76 a 1.561 Km) par a par por um teste de Mantel (MANTEL, 1967).

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização da Diversidade Genética

Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o), considerando o conjunto de locos são de 0,894 e 0,692 (Tabela 4) respectivamente.

Tabela 4. Caracterização dos locos microssatélites baseado nas 12 populações de *T. aurea*.

LOCOS	N	H_e	H_o	F
TAU 12	30	0,897	0,582	0,346
TAU 13	24	0,88	0,673	0,198
TAU 14	25	0,878	0,667	0,247
TAU 15	29	0,908	0,713	0,236
TAU 16	43	0,929	0,626	0,314
TAU 17	52	0,928	0,827	0,122
TAU 21	39	0,864	0,704	0,133
TAU 24	35	0,86	0,643	0,217
TAU 27	33	0,868	0,831	0,041
TAU 28	34	0,924	0,644	0,287
TAU 31	35	0,901	0,7	0,201
Média	34,455	0,894	0,692	0,216

N, Número total de alelos por loco; H_e , heterozigosidade esperada; H_o , heterozigosidade observada; f , coeficiente de endogamia. Intervalo de confiança 0,05.

O número de alelos variou entre 24 para o loco TAU13 e 52 para o TAU17, com uma média de 34,4 alelos por loco. Os resultados demonstram um elevado conteúdo informativo associado aos marcadores microssatélites, reforçando sua utilidade em estudos de genética de populações naturais de *T. aurea*. Os 11 locos microssatélites apresentaram altos níveis de polimorfismo tanto dentro como entre as 12 populações (Figura 4).

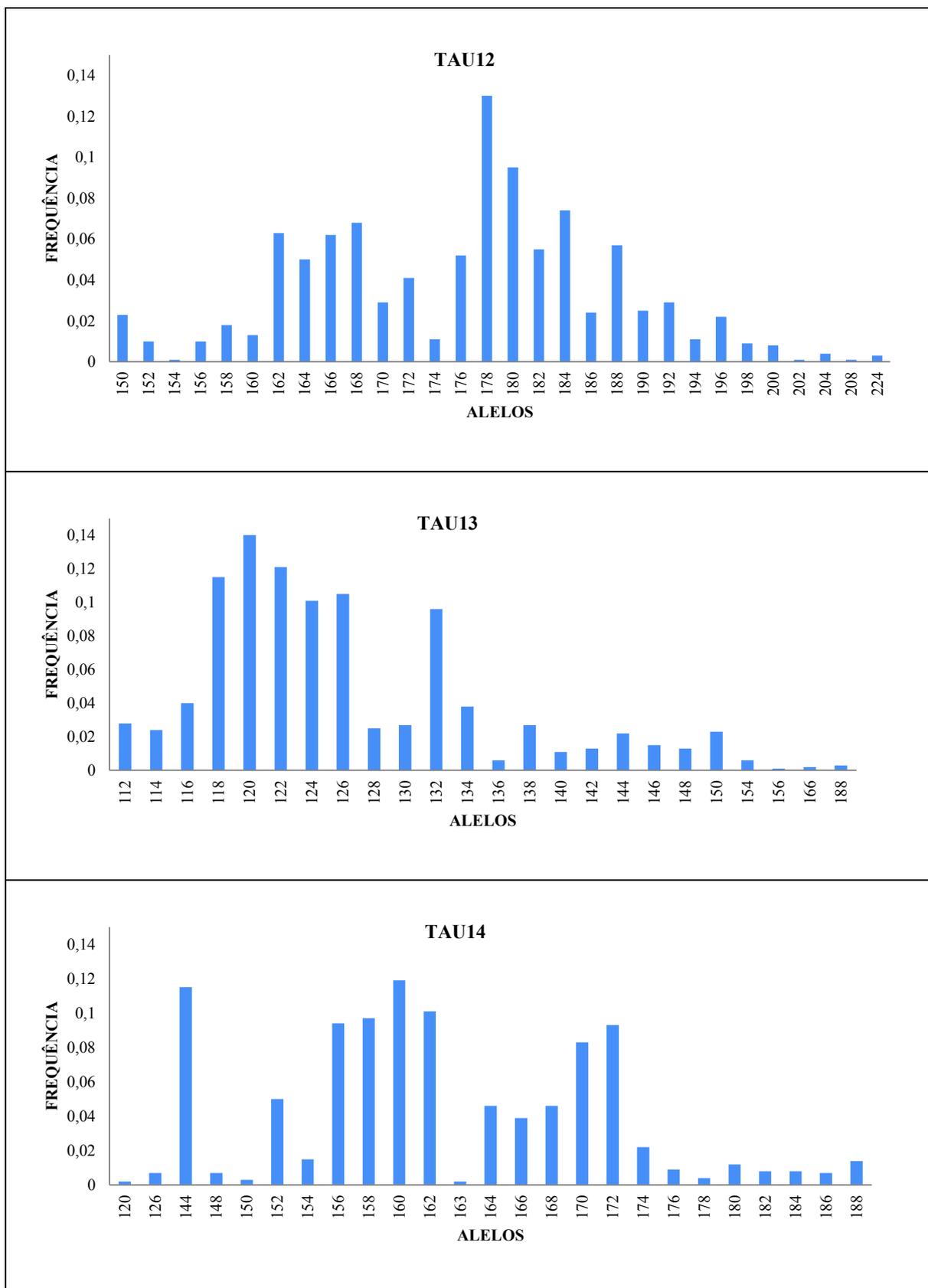


Figura 4: Distribuição das frequências alélicas para os 11 locos microssatélites de *T. aurea*. No eixo Y as frequências alélicas e no eixo X os alelos encontrados para cada loco.

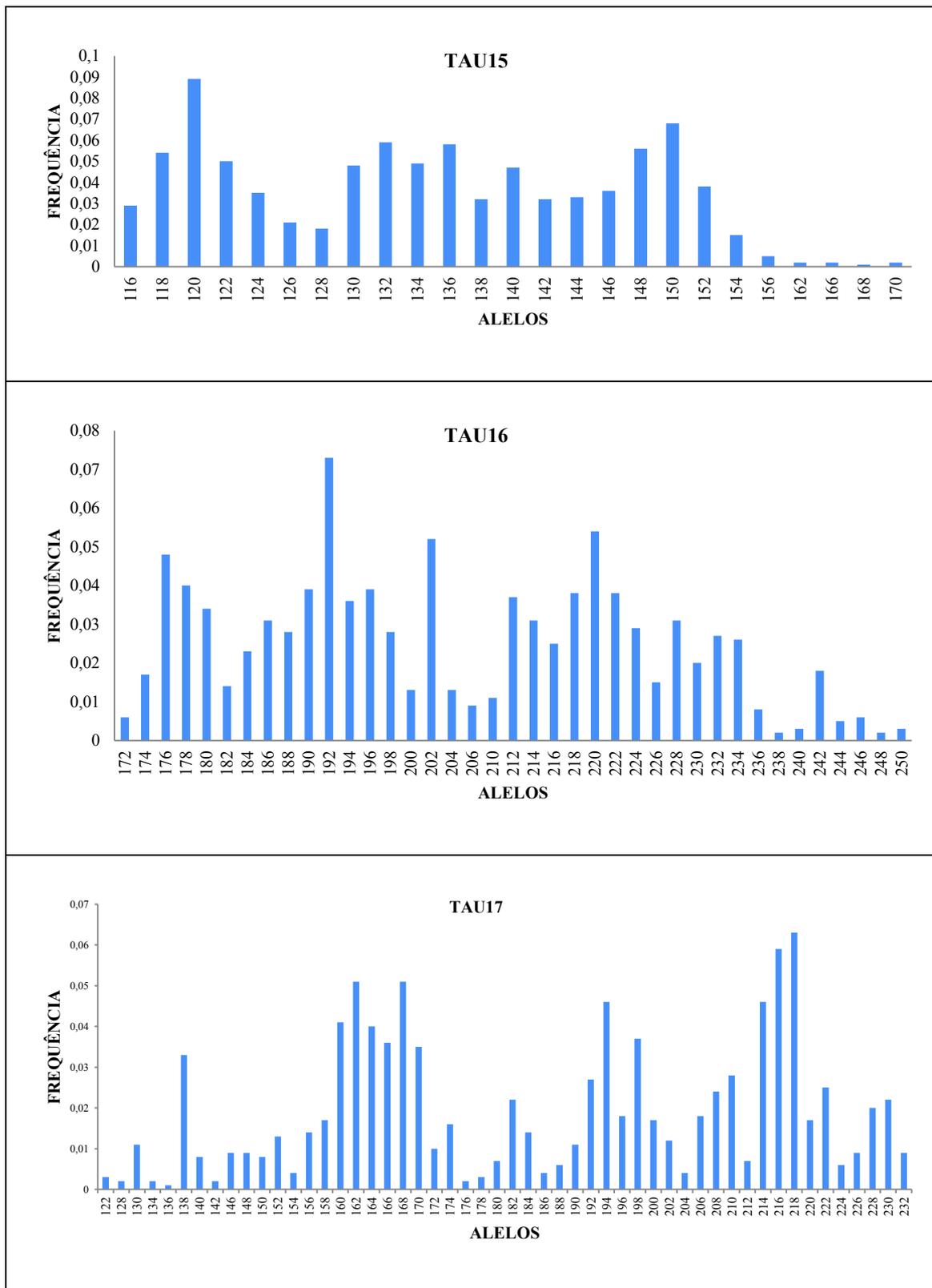


Figura 4: Continuação

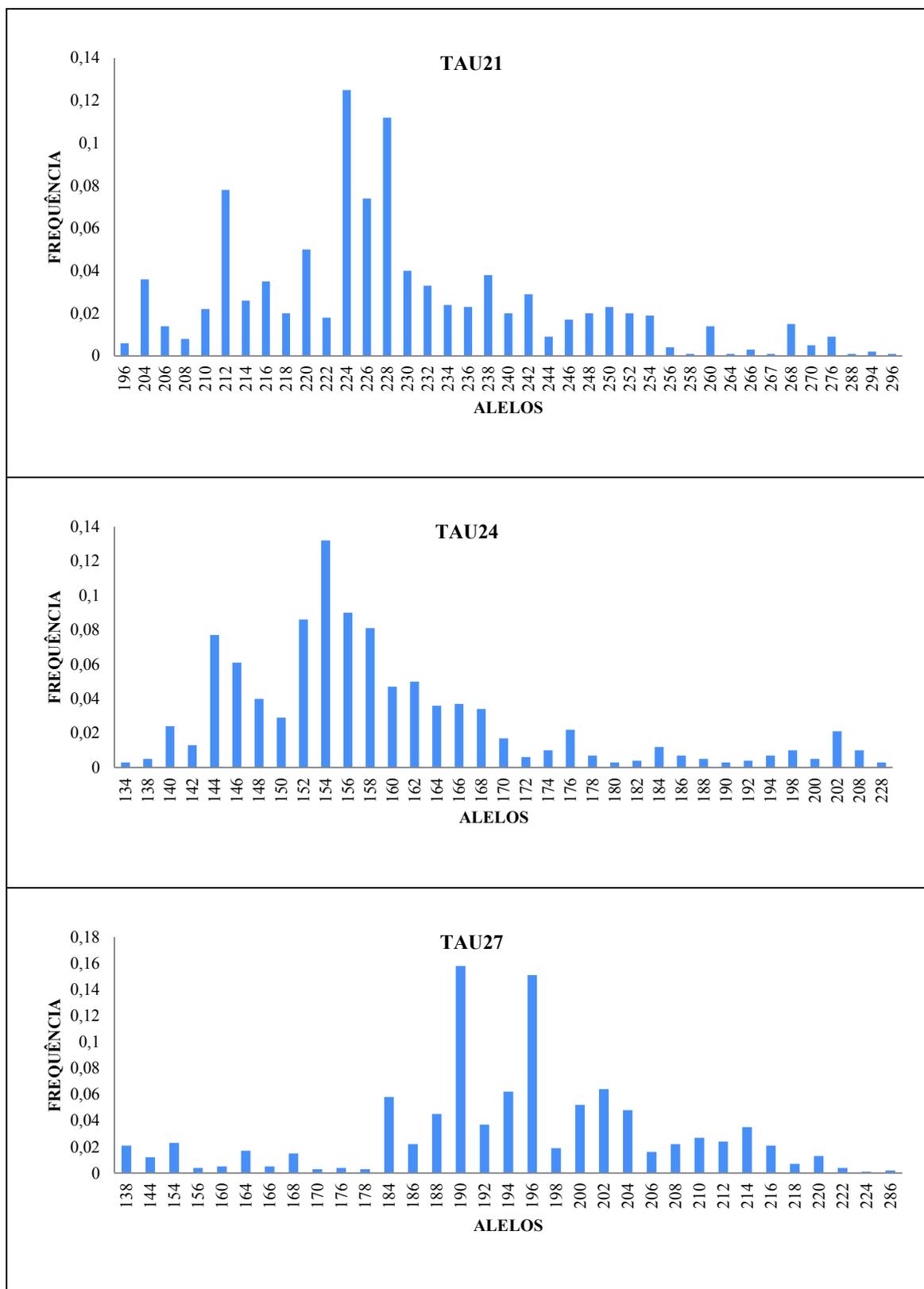


Figura 4: Continuação

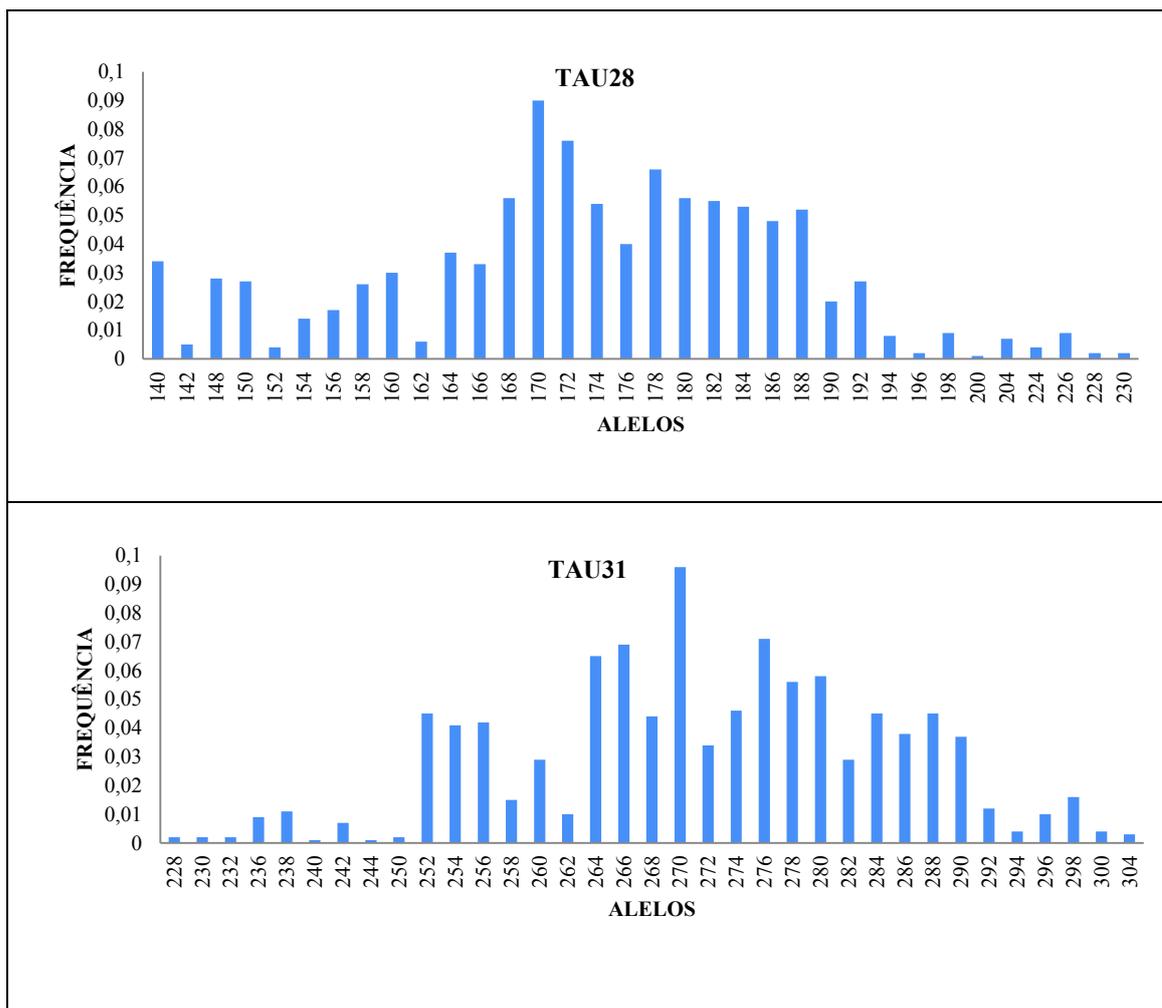


Figura 4: Continuação

As populações apresentaram uma média geral de 11,89 alelos e um número médio de alelos por população que variou de 19,18 em Aguas Emendadas (AGE) a 8,45 em Sumidouro (SUM). A riqueza alélica dentro das populações variou de 1,928 em AGE a 1,839 em SUM. Os valores de heterozigidade esperada (H_e) e observada (H_o) foram maiores em AGE com $H_e = 0,92881$ e $H_o = 0,860$; em SUM estes valores foram bem menores, com $H_e = 0,83927$ e $H_o = 0,64404$. Os valores encontrados para o coeficiente de endogamia dentro das populações (f) foram significativos para todas elas, variando de 0,075 para AGE e de 0,337 para Pandeiros (PAN). As frequências alélicas não estão seguindo as proporções esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 5).

Tabela 5: Caracterização das 12 populações de *Tabebuia aurea* baseado em 11 locos microssatélites.

Populações	N	A	R _s	He	Ho	f
AGE	30	19,18	1,928	0,92881	0,86	0,075
ARA	12	9,81	1,886	0,88639	0,706	0,21
BAG	26	12	1,846	0,84624	0,61779	0,275
BAR	14	10,72	1,917	0,91722	0,71205	0,234
BOD	21	14,9	1,921	0,92123	0,7702	0,169
CAR	19	11	1,868	0,86859	0,64833	0,264
FAT	22	12,18	1,896	0,89641	0,71626	0,206
PAN	19	12,09	1,902	0,90242	0,6051	0,337
POT	16	10,72	1,874	0,87427	0,75303	0,159
PNE	14	11	1,903	0,90318	0,63718	0,306
SUM	14	8,45	1,839	0,83927	0,64404	0,241
VIB	30	10,63	1,848	0,84828	0,63022	0,261
Total	237	11,89	-	-	-	-

N, Número de indivíduos; A, número médio de alelos por população; R_s, riqueza alélica; He, heterozigosidade esperada; Ho, heterozigosidade observada; e (f), coeficiente de endogamia dentro das populações, todos os valores são significativos, $p < 0,00038$, valor obtido por correção de Bonferroni para o valor nominal de $\alpha = 5\%$.

4.2. Estrutura genética das Populações

A análise de estrutura genética revelou baixa diferenciação entre as 12 populações, porém significativa. O coeficiente de endogamia para o conjunto de populações (F) variou de 0,108 para o loco TAU27 e 0,393 para o loco TAU12, com uma média de 0,264 (Tabela 6). O Coeficiente de endogamia dentro das populações (f) atingiu uma média de 0,216, variando de 0,041 para o loco TAU27 e de 0,346 para o loco TAU12 (Tabela 6). O coeficiente de diferenciação entre as populações (θ) variou entre 0,036 para o loco TAU28 e 0,091 para o loco TAU24, com um valor global de 0,061 (Tabela 6). O coeficiente de diferenciação populacional (R_{ST}) (com base no tamanho do alelo, $P=0,000$) variou entre 0,054 para o loco TAU12 e 0,466 para o loco TAU27, com um valor global de 0,188, e para todos os locos, os valores de θ foram menores que os valores de R_{ST} , sendo assim, significativa a diferença entre eles (Tabela 6)

Tabela 6: Estrutura genética das doze populações de *Tabebuia aurea*.

LOCOS	<i>F</i>	<i>f</i>	θ	<i>R_{ST}</i>
TAU 12	0,393	0,346	0,073	0,054
TAU 13	0,239	0,198	0,051	0,193
TAU 14	0,29	0,247	0,056	0,167
TAU 15	0,282	0,236	0,06	0,095
TAU 16	0,35	0,314	0,053	0,205
TAU 17	0,163	0,122	0,047	0,104
TAU 21	0,202	0,133	0,08	0,073
TAU 24	0,288	0,217	0,091	0,457
TAU 27	0,108	0,041	0,07	0,466
TAU 28	0,312	0,287	0,036	0,231
TAU 31	0,25	0,201	0,061	0,074
Total	0,264*±0,025	0,216*±0,027	0,061*±0,005	0,188*±0,049

F, coeficiente de endogamia para o conjunto de populações; *f*, coeficiente de endogamia intrapopulacional; θ índice de fixação entre populações; *R_{ST}*, diferenciação de população com base no tamanho do alelo ($P = 0,000$; valor significativo para todos os locos). Intervalo de confiança = 95% obtidos por bootstrapping com 10000 replicações.

Na análise de F_{ST} par a par, a população Pandeiros apresentou menor diferenciação com as populações de Águas Emendadas e de Fazenda Araguaia (Tabela 7); a população de Barra do Garças (BAG) apresentou valores altos e significativos de divergência genética com todas as outras populações (Tabela 7). O teste de Mantel, utilizado para testar a hipótese de isolamento por distância, revelou que os valores de diferenciação par a par não foram significativamente correlacionados com a distância geográfica ($P < 0,006633$, $r = -0.081444$, $b = -0.000007$) (Tabela 7).

Tabela 7: Divergência genética (F_{ST}) par a par entre as 12 populações de *T. aurea*.

	AGE	ARA	BAG	BAR	BOD	CAR	FAT	PAN	POT	PNE	SUM	VIB
AGE	0,00000											
ARA	0,03512	0,00000										
BAG	0,03833	0,03258	0,00000									
BAR	0,03235 ^{NS}	0,01646 ^{NS}	0,03793	0,00000								
BOD	0,01953	0,05079	0,05656	0,00498 ^{NS}	0,00000							
CAR	0,04632 ^{NS}	0,01183 ^{NS}	0,03211	0,02422	0,01434 ^{NS}	0,00000						
FAT	0,00014 ^{NS}	0,00008 ^{NS}	0,06426	0,02550 ^{NS}	0,02201	0,01221 ^{NS}	0,00000					
PAN	0,02195	0,01997	0,05179	0,00690 ^{NS}	0,03676	0,00487 ^{NS}	0,03100	0,00000				
POT	0,02897	0,05100	0,06807	0,04716	0,05771	0,02461 ^{NS}	0,03088	0,03820	0,00000			
PNE	0,00394 ^{NS}	0,03022	0,07179	0,02034 ^{NS}	0,00485 ^{NS}	0,01243 ^{NS}	0,05363	0,05121	0,00140 ^{NS}	0,00000		
SUM	0,05110	0,04889	0,08819	0,01572 ^{NS}	0,04512	0,01843 ^{NS}	0,06363	0,05413	0,03958	0,05396	0,00000	
VIB	0,05488	0,03349	0,07751	0,00522 ^{NS}	0,04785	0,01777 ^{NS}	0,03363	0,04609	0,05367	0,05140	0,08865	0,00000

^{NS}, valores não significativos de divergência genética entre as populações. $P < 0,006633$, $r = -0.081444$, valores obtidos após 10100 permutações com intervalo de confiança de 95% por múltiplas comparações.

5. DISCUSSÃO

5.1. Diversidade Genética

As 12 populações analisadas de *Tabebuia aurea*, possuem altos níveis de diversidade genética, com um razoável número médio de alelos por loco e com altos valores de heterozigosidade esperada e observada. As áreas de preservação permanente, Estação Ecológica de Águas Emendadas (AGE), APA Estadual do Rio Pandeiros (PAN) e Parque Nacional das Emas (PNE), de alguma forma estão contribuindo para a conservação dessa diversidade; e provavelmente, o tempo de perturbação antrópica nas áreas fragmentadas não foi suficiente para alterar a diversidade genética, ou os efeitos dessas alterações serão percebidos nas futuras gerações dessas populações. Silva (2010) ao estudar 08 populações de *T. aurea* em remanescentes de Cerrado nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, utilizando os mesmos marcadores microssatélites deste estudo, também observou altos níveis de diversidade genética, heterozigosidades variando de 0,950 a 0,621. Collevatti (2001b), utilizando marcadores microssatélites, também observou alta diversidade genética nas populações de *Caryocar brasiliense*, que possui ampla distribuição geográfica, assim como *T. aurea*.

Na caracterização dos locos microssatélites desenvolvidos para *T. aurea*, Braga *et al.*, 2006, observaram uma média de 18,7 alelos por loco e heterozigosidade observada e esperada (valores médios variando para todos os locos) de 0,587 e 0,913, respectivamente. O conjunto de locos desenvolvido mostrou-se bastante apropriado para o estudo de estrutura de parentesco e acasalamento de *T. aurea*, com alto poder de exclusão de paternidade e baixa probabilidade de identidade genética. O número de alelos observados neste trabalho foi satisfatório, considerando o que deve ser esperado para locos microssatélites que são potencialmente multialélicos (GOLDSTEIN; SCHLÖTTERER, 2001; ELLEGREN, 2004)

As estimativas do coeficiente de endogamia intrapopulacional (f) foram altas e significativamente diferentes de zero para todas as populações, revelando que existe endogamia dentro das populações, o que indica que as frequências alélicas na população não estão seguindo as proporções esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg, ou seja, estão ocorrendo acasalamentos não aleatórios dentro da população. Qualquer população de tamanho finito torna-se mais endogâmica com o tempo, pelo aumento do

parentesco, ao passar das gerações, reduzindo a proporção de heterozigotos e aumentando a probabilidade de que os indivíduos carreguem alelos que sejam idênticos por descendência. O cruzamento entre indivíduos aparentados não altera as frequências alélicas, mas aumenta a frequência dos genótipos homozigotos. Quando a perda da variabilidade genética é meramente consequência da redução do tamanho populacional, a população permanece em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (FUTUYMA, 1992).

A endogamia se refere a um sistema de acasalamento onde indivíduos relacionados cruzam a uma taxa maior do que a esperada por cruzamento aleatório. A endogamia pode levar a reduções na heterozigosidade, à redução da reprodução e sobrevivência, ou seja, perda do vigor reprodutivo (depressão endogâmica), aumentando assim, o risco de extinção. A grande consequência prática da endogamia é que os homozigotos para alelos deletérios tornam-se mais frequentes em populações que se reproduzem ao acaso (FRANKHAM, *et al.* 2008).

A população de AGE apresentou maior diversidade genética com relação às demais populações deste estudo, onde foi encontrada a maior média de alelos, os maiores índices de heterozigosidade esperada e observada, maior riqueza alélica e o menor coeficiente de endogamia intrapopulacional (f). Collevatti *et al.* (2001b) estudaram uma população de *Caryocar brasiliense* nesta mesma área e seus resultados mostraram uma alta variabilidade genética e um baixo índice de acasalamentos de indivíduos aparentados assim como neste estudo. Isto indica que a AGE, como uma área de preservação permanente tem papel extremamente importante na conservação dessa espécie, possuindo uma grande representatividade da variabilidade genética em relação às populações com alta influência antrópica. Ao analisar três populações de *T. aurea* em uma área de preservação permanente, em Pedregulho – SP, Silva (2010), também observou alta diversidade genética, com uma alta média de alelos, com altos valores de heterozigosidade média, no entanto, apresentou valores altos e significativos de endogamia (f).

A população de Pandeiros (PAN) possui altos índices de diversidade genética, no entanto apresenta o maior coeficiente de endogamia (f) das doze populações. Antes da criação desta unidade de conservação em 1995, que é relativamente recente. Esta área era explorada para diversos fins como: pecuária, agricultura, carvão e lenha (corte

da vegetação nativa), mineração, drenagem da água, dentre outros, que geram grandes problemas ambientais alterando suas funções bióticas e abióticas (BOAVENTURA, 2007; SALES *et al.*, 2009). É de grande importância a conservação desta área, pois ela apresenta uma diversidade florística peculiar, com espécies características de cerrado e outras pertencentes às Florestas Estacionais Deciduais, correspondendo a um importante mosaico vegetacional para a região do rio Pandeiros (SALES *et al.*, 2009).

A população de PNE, apesar de ser também uma área de preservação permanente, apresentou o número médio de alelos, os índices heterozigosidade esperada e observada bem menores do que em AGE; mas o coeficiente de endogamia (f) foi bastante alto e significativo. PNE apresenta uma menor taxa de diversidade genética e um alto índice de endogamia, provavelmente porque esta área sofre com as constantes queimadas e por estar ilhada por lavouras, restringindo ainda mais o fluxo gênico. Resultado semelhante foi observado por Collevatti *et al.* (2001b) para *Caryocar brasiliense* no Parque Nacional de Brasília – DF, em que o coeficiente de endogamia (f) foi significativo e onde os eventos de fogo são frequentes.

Em média, as populações de Vila Boa (VIB), Cáceres (CAR), Barra do Garças (BAG) e Pandeiros (PAN), situadas em áreas de alagamento, geralmente formando grupamentos chamados de “paratudais”, não apresentaram diferenças significativas de diversidade genética quando comparadas com as populações situadas em áreas drenadas como Fazenda Araguaia (ARA), Bodoquena (BOD), Portelândia (POT) e outras.

A população de Sumidouro (SUM) apresentou os menores índices de diversidade genética em relação às outras populações analisadas, com a menor média de alelos, os menores valores de heterozigosidade esperada e observada o valor do coeficiente de endogamia (f) foi alto e significativo. O aumento da endogamia e a diminuição dos índices de diversidade genética, nesta população e nas demais populações fragmentadas, possivelmente são efeitos decorrentes da restrição do fluxo gênico ou de deriva genética causada pela fragmentação do Cerrado.

Desta forma, ainda são observados altos níveis de diversidade genética nos remanescentes de Cerrado amostrados, evidenciando que a ausência de grandes variações entre as populações nos níveis de diversidade deve-se, provavelmente ao pequeno número de gerações que transcorreram após a fragmentação. Segundo

FUTUYMA (2002), alterações na heterozigosidade são percebidas mais facilmente quando se dá um número maior de gerações após a fragmentação. Quando ocorre redução no tamanho populacional, mesmo que o número de alelos seja reduzido, o grau de heterozigosidade e a diversidade genética podem permanecer tão altos quanto a população original. Isso acontece porque na maioria das vezes, os alelos perdidos por deriva são raros, e contribuem pouco para o nível de heterozigosidade (NEI, 1975). As poucas evidências da perda de diversidade genética também podem estar relacionadas método de amostragem realizada, apresentando uma mescla de indivíduos originados antes (adultos) e depois da fragmentação (jovens) (SILVA, 2010).

5.2. Estrutura Genética das Populações

O conhecimento da estrutura populacional é importante para evitar perdas adicionais de diversidade genética em populações que são ameaçadas por atividades madeireiras, desmatamento e fragmentação de hábitat (HALL *et al.* 1994, NASON *et al.* 1997, ROCHA; LOBO 1998).

As estimativas de estrutura genética indicaram que a diferenciação entre populações é baixa, porém significativa ($\theta = 0,061$; $P = 0,0005$). De acordo com Wright (1951), valores de θ entre 0 e 0,15 indicam fraca diferenciação genética, valores entre 0,15 e 0,25 indicam diferenciação moderada e valores acima de 0,25 indicam grande diferenciação. Porém, estas estimativas apresentam altos valores dos coeficientes de fixação do conjunto total das populações ($F = 0,264$, $P = 0,0005$) e de endogamia intrapopulacional ($f = 0,216$, $P = 0,0005$), sugerindo que a variabilidade genética esteja estruturada nas populações de *T. aurea* e que a diferenciação entre elas ocorre principalmente por acasalamentos não aleatórios dentro e entre populações, e não somente por deriva. Isto sugere que o endocruzamento esteja determinando a estrutura genética destas populações, causando a diferenciação entre elas pelo aumento de homozigotos dentro das populações (WRIGHT, 1931).

Quanto às estimativas de θ e R_{ST} , verificou-se que houve diferença significativa entre os dois valores, sendo os valores de θ menores que os valores de R_{ST} . Estes resultados indicam que os alelos são mais propensos a serem idênticos por estado que

por descendência (SLATKIN, 1995), considerando que os marcadores microssatélites acompanham o modelo de mutação *stepwise*, com uma taxa de mutação geralmente elevada. Entretanto, as estatísticas baseadas no modelo de mutação de infinitos alelos que considera os alelos idênticos por descendência, como θ ou F_{ST} , tendem a subestimar a diferenciação populacional (SLATKIN, 1995; HEDRICK, 1999). Collevatti *et al.* (2001b) também obtiveram este resultado ao analisarem a estrutura genética populacional de *Caryocar brasiliense* com locos microssatélites.

Na análise de divergência genética (F_{ST}) par a par, de modo geral as populações apresentaram altos valores de F_{ST} , indicando que a diferenciação é maior dentro das populações do que entre elas. A hipótese de isolamento por distância, ou seja, de que as populações mais distantes geograficamente deveriam ser também geneticamente mais diferenciadas não foi corroborada pelos resultados da análise, que demonstrou não existir correlação entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas.

Em estudo sobre a variação temporal da dispersão de pólen e a sistema reprodutivo de *Tabebuia aurea*, Braga & Collevatti (2010), observaram que *T. aurea* apresenta um sistema misto de polinização. A distância máxima de dispersão de pólen foi de 2.608m e a maioria dos eventos de polinização (65%) ocorreram em distâncias inferiores a 300 metros. A curta distância de dispersão de sementes, o padrão de distribuição de *T. aurea* em grupos e a floração “big-bang” levam à permanência de polinizadores na mesma planta e em grupos de indivíduos próximos devido a alta disponibilidade de recurso, promovendo autofecundação e curtas distâncias de dispersão de pólen. Possivelmente, estes fatores também podem corroborar para a estruturação destas populações de *T. aurea*. Assim, a manutenção de uma grande população e a viabilidade de espécies em longo prazo é necessário para garantir uma maior proporção de fluxo de pólen entre indivíduos não aparentados aumentando a heterozigosidade, prevenindo a depressão endogâmica e minimizando os efeitos da flutuação do tamanho efetivo populacional.

A fragmentação de áreas de floresta, pelo avanço da agricultura e de outras atividades antrópicas, leva ao isolamento de subpopulações e, conseqüentemente, à deriva genética e à endogamia (ROBINSON, 1998). No entanto, não foi detectado o

efeito da fragmentação sobre as populações de *T. aurea*, pois elas ainda preservam uma alta taxa de diversidade genética que precisa ser conservada. Provavelmente porque a fragmentação do Cerrado seja um evento relativamente recente, cerca de 60 anos, em comparação com o ciclo de vida das espécies e porque os indivíduos amostrados são na maioria adultos. Para tanto, seriam necessários estudos com progênies para detectar os efeitos deletérios da fragmentação sobre essas populações.

6. CONCLUSÃO

- Existe um alto nível de variabilidade genética em populações naturais de *T. aurea*.

- Há endogamia significativa dentro das populações de *T. aurea*, indicando a ocorrência de acasalamento entre indivíduos aparentados.

- A população de AGE, situada na Estação Ecológica de Águas Emendadas, apresentou maior diversidade genética e menor coeficiente de endogamia das doze populações analisadas.

- As populações de PAN e PNE, também em áreas de conservação não apresentaram maior diversidade genética que as outras em áreas fragmentadas, entretanto, o coeficiente de endogamia foi maior nas áreas mais afetadas por distúrbios antrópicos.

- As doze populações estudadas apresentam baixos índices de estruturação genética, porém significativos.

- As populações não apresentam isolamento por distância.

- Provavelmente, os acasalamentos não aleatórios dentro e entre populações, o padrão de distribuição de *T. aurea* em grupos e a polinização a curta distância sejam os fatores responsáveis pela estrutura genética em *T. aurea*.

- Não foram detectados os efeitos da fragmentação sobre as populações de *T. aurea*.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de um crescente nível de conhecimento sobre a biodiversidade brasileira, muitas lacunas de conhecimento precisam ainda ser enfocadas para que a ciência tenha uma influência positiva nas ações de conservação. É necessário que haja um levantamento detalhado dos últimos remanescentes das áreas de Cerrado, para ser possível maior obtenção de informações básicas sobre o ambiente como um todo, sobre a diversidade genética das espécies, associado a um intensivo inventário florístico.

A criação de unidades de conservação no Cerrado pode ser insuficiente para conter o desmatamento caso não haja um esforço coletivo para a adoção de práticas mais sustentáveis de ocupação do Cerrado. Devem ser criadas leis federais específicas de proteção do bioma, como a aprovação da Proposta de Emenda Constitucional (PEC) 115/95, que inclui o Cerrado e a Caatinga como patrimônio nacional, assim como a Amazônia e a Mata Atlântica. Essas ações são urgentes e essenciais para que a rica biodiversidade do Cerrado não desapareça nesse consumo desenfreado dos recursos naturais.

As políticas de conservação e de desenvolvimento devem trabalhar de maneira integrada para que os recursos naturais do Cerrado sejam preservados e eventualmente explorados economicamente. Uma das formas de se promover a conservação desse importante bioma seria a constituição de um fundo voltado para a recuperação de áreas degradadas, proteção de mananciais hídricos e a manutenção das áreas protegidas existentes (MACHADO *et al.*, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L.M.S., R.B. MACHADO & J. MARINHO-FILHO. **A diversidade biológica do Cerrado**. In: L.M.S. Aguiar; A. Camargo (eds.). Ecologia e caracterização do Cerrado. pp. 19-42. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Cerrados), Planaltina, Brasil, 2004.

ALMEIDA S. P., PROENÇA C.E.B., SANO S.M., RIBEIRO J.F. **Cerrado: Espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. p.48-54, 1998.

ALVAREZ-BUYLLA, E.R.; GARAY, A.A. **Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species**. *Evolution*, v. 48, n 2, p. 437-453, 1994.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History, and Evolution**. New York: Chapman and Hall, 541 p, 1994.

BARROS, M. G. **Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. And *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation**. *Revista Brasileira de Botânica*, v.24, p.255-261. 2001.

BOAVENTURA, R. S. **Veredas: berço das águas**. Belo Horizonte: Ecodinâmica, 264p, 2007.

BRAGA, A.C.; REIS, A.M.M.; LEOI, L.T.; PEREIRA, R.W.; COLLEVATTI, R.G. **Development and characterization of microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae)**. *Molecular Ecology Notes*, v7, p.53-56. 2006.

BRAGA, A.C.; COLLEVATTI, R.G. **Temporal variation in pollen dispersal and breeding structure in a bee-pollinated Neotropical tree**. *Heredity*, p.1–9, 2010.

BRANDON, K.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; SILVA, J. M. C. **Conservação Brasileira: desafios e oportunidades**. *Megadiversidade* (Belo Horizonte), Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 07-13, 2005.

BRAZ, V. S.; CAVALCANTI, R. B. **A representatividade de áreas protegidas do Distrito Federal na conservação da avifauna do Cerrado**. *Ararajuba* 9:61-69, 2001.

BROWN, A. H. D. **Isozymes plant populations genetics structure and genetic conservation**. *Theor. Appl. Genet.*, v. 52, p. 145-157, 1978.

BROWN, S. M.*et al.* **Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]**. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, v.V93, n.1, p.190-198, 1996.

BRUNER, A.G., GULLISON, R.E., RICE, R.E. e FONSECA, G.A.B. **Effectiveness of parks in protecting tropical biodiversity.** *Science* 291(125-128), 2001.

COCKERHAM, C. C. **Variance of gene frequencies.** *Evolution*, **23**, 72 – 84, 1969.

COLLEVATTI, R. G.; BRONDANI, R. V.; GRATTAPAGLIA, D. **Development and characterization of microsatellite markers for genetic analysis of a Brazilian endangered tree species *Caryocar brasiliense*.** *Heredity*, v.83 (Pt 6), Dec, p.748-756. 1999.

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. **High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliense*, an endangered tropical tree species.** *Heredity*, v.86, n.Pt 1, Jan, p.60-67. 2001a.

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. **Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci.** *Mol Ecol*, v.10, n.2, Feb, p.349-356. 2001b.

COLLEVATTI, R. G.; LIMA, J.S.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C. **Spatial Genetic Structure and Life history traits in Cerrado tree species: inferences for conservation.** *Natureza & Conservação*, v. 8, p. 54-59, 2010

COUTINHO, L. M. **Aspectos do cerrado** [on line]. Disponível em http://eco.ib.usp.br/cerrado/aspectos_bioma.htm, 2009.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; CARVALHO, A. R.; PINTO, M. P.; ANACLETO, T. C. **Métodos para seleção de reservas e estabelecimento de áreas prioritárias para conservação no Cerrado.** *In: Recursos Genéticos e Conservação de Plantas Medicinais do Cerrado.* Pereira AMS (Ed). Editora Legis Summa. Ribeirão Preto. FAPESP, p. 75-107, 2007.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. **A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.** *Phytochemical Bulletin*, St. Louis, v. 19, p. 11-15, 1987.

EITEN, G. **The cerrado vegetation of Brazil.** *Botanical Review* 38: 201-341, 1972.

EITEN, G. **Brazilian savannas.** *In: Huntley; B.J. & Walker, B.H. (eds). Ecology of tropical savannas.* Berlin: Springer-Verlag. P. 25-47, 1982.

EITEN, G. **Vegetação do cerrado.** *In Cerrado - caracterização, ocupação e perspectivas* (M.N. Pinto, org.). Editora da Universidade de Brasília, Brasília, p.17-73, 1994.

ELLEGREN, H. **Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference.** *Trends in Genetics*, v. 16, n. 12, p. 551-558, 2000.

ELLEGREN, H. **Microsatellites: simple sequences with complex evolution.** Nature Reviews Genetics, v. 5, p. 435-445, 2004.

ELLSTRAND, N. C.; ELAM, D. R. **Population genetic consequences of small population size: Implications for Plant Conservation.** Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, v. 24, p. 217-242, 1993.

EPPERSON, B. K. **Spatial autocorrelation of genotypes under directional selection.** Genetics 124:757-771, 1990.

EXCOFFIER, L. G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin ver. 3.11:** A software package Integrated analysis of genetic data population. Evolutionary Bioinformatics Online 1:47 – 50, 2007.

FELFILI, J. M. **Determinação de padrões de distribuição de espécies em uma mata de galeria no Brasil Central com a utilização de análise multivariada.** Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer, v.2, p.35-48. 1998.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3. ed. , Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 220p, 1998.

FRANKHAM R. **Genetics and conservation biology.** Académie des sciences. Published by Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 2003.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação.** Ribeirão Preto, SP: SBG – Sociedade Brasileira de Genética, p. 280, 2008.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva.** 2.ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de genética - SBG, 631p, 1992.

GENTRY A. H. **Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae.** Biotropica 6, 64-68, 1974a.

GENTRY, A. H. **Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae.** Annals of the Missouri Botanical Garden 61: 728-759, 1974b.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae of southern Central America: distribution and ecological specificity.** Biotropica 8(2): 117-131, 1976.

GENTRY A. H. **An overview of Neotropical phytogeographic patterns with an emphasis on Amazonia.** An. 1o Simpósio do Trópico Úmido 2, 19-35, 1986.

GENTRY A. H. **Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae**. Memoirs of the New York Botanical Garden 55, 118-129, 1990.

GILPIN, M. E.; SOULÉ, M. E. **Minimum viable populations: processes of species extinction**. Pages 19-34 in M. E. Soulé, ed. Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 1986.

GIBBS P. E.; BIANCHI M. **Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late acting self-incompatibility**. Botanica Acta 106, 64-71, 1993.

GOUDET J. **Fstat (version 2.9.3): a computer program to calculate F-statistics**. Journal of heredity, 86:485-486, 1995.

GOLDSTEIN, B. D.; SCHLÖTTERER, C. **Microsatellites: Evolution and Applications**. Oxford University Press, UK, 2001.

HAMRICK, J. L. **The distribution of genetic variation within and among natural plant population**. In: C. M. SCHONE-WALD-COX, S.H. CHAMBERS, B. MacBYDE; L. THOMAS. **Genetics and conservation**. Benjamin Cummings Publishing Company, Menlo Park, California, p. 335-348. 1983.

HAMRICK, J. L. **Gene flow and distribution of genetic variation in planta population**. In: URBANSKA, K (Ed.). Differentiation patterns in higher plants. New York: Academic Press, p. 53-76, 1987.

HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. **SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels**. *Molecular Ecology Notes* 2: 618-620, 2002.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of Populations Genetics**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc 1997.

HEDRICK, P. W. **Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation**. *Evolution*, 53, 313 – 318, 1999.

HOLSINGER, K. E; WEIR, B. S. **Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST**. Nature Reviews Genetics, v. 10, p. 639-650, 2009.

IBAMA. 1989. Portaria N° 1.522, 19 de dezembro de 1989, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

INSTITUTO DE GEOCI NCIAS APLICADAS - IGA. **Áreas de Proteção Ambiental no Estado de Minas Gerais: demarcação e estudos para o pré-zoneamento**

ecológico - APA Bacia do Rio Pandeiros. Belo Horizonte: IGA, Relatório Técnico, 2006.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS DE MINAS GERAIS - IEF. Disponível em: <<http://www.ief.mg.gov.br>>.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. **A Conservação do Cerrado Brasileiro.** Belo Horizonte, Megadiversidade, v. 1, n. 1, jul. 2005, p. 148-155, 2005.

LEVIN, D. A. Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri botanical garden*, St.Louis, 68:233-53, 1981.

LEVINSON, G.; GUTMAN, G. A. **Slipped-Strand Mismatching: A Major Mechanism for DNA Sequence Evolution.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 4, n. 3, p. 203-221, 1987.

LITT, M.; LUTY, J. A. **A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene.** *Am. J. Hum. Genet.* 44,397-401, 1989.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, vol. 1 / 4 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. **Ecological determinants of genetic structure in plant populations.** *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 15, p. 65-95, 1984.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro.** Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004a.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; HARRIS, M. B.; LOURIVAL, R.; AGUIAR, L. M. S. **Análise de lacunas de proteção da biodiversidade no Cerrado – Brasil.** Pp. 29-38. *In: Anais do IV Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. Volume II – Seminários. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza e Rede Nacional Pró Unidades de Conservação.* Curitiba, PR, 2004b.

MANTEL, N. A. **The detection of disease clustering and a generalized regression approach.** *Cancer Research*, **27**, 209 – 220, 1967.

MAURY, C. M.; RAMOS, A. E.; OLIVEIRA, P. E. **Levantamento florístico de estação Ecológica de Águas Emendadas.** *Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer*, v.1, p.46-67. 1994.

MILLER, K. R.; FURTADO, J.; DE KLEMM, C.; MCNELLE, J. A., MYES, N., SOULÉ, M. E., TREXLER, M. C. **Issues on the Preservation of Biological Diversity**. Yale University, 1985.

MITTERMEIER, R.A.; ROBLES-GIL, P. & MITTERMEIER, C. G. (eds.). **Megadiversity: Earth's biologically wealthiest nations**. CEMEX, Agrupación Serra Madre, S.C., Mexico, 1997.

MOURA, T. M.; SEBBENN, A. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; OLIVEIRA, G. C. X.; KAGEYAMA, P. Y. **Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum spp.* do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites**. Scientia Forestalis (IPEF), v. 37, p. 143-150, 2009.

NEI, M. **Molecular populations genetics and evolution**. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 288p. 1975.

NEIMAN, Z. **Era Verde? Ecosistemas Brasileiros Ameaçados**. São Paulo: Atual, 1989.

NEWTON AC, ALLNUT TR, GILLIES ACM, LOWE AJ, ENNOS RA. **Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species**. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 140–145, 1999.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENVOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. **Origin, evolution and genome distribution of microsatellites**. *Genetics and Molecular Biology*, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; SHEPHERD, G. D.; MARTINS, F. R. & STUBBLEBINE, W. H. **Environmental factors affecting physiognomic and floristic variation in an area of cerrado in Central Brazil**. *Journal of Tropical Ecology* 5: 413-431, 1989.

OHTA, T.; KIMURA, M. **A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a genetic population**. *Genet. Res.* 22 : 201-204, 1973.

PEREIRA, A. M. S. **Recursos Genéticos e Conservação de Plantas Medicinais do Cerrado**. Ribeirão Preto – 360 p., 2007.

PEREIRA, M. F.; BANDEIRA, L. F.; BLANCO, A. J. V.; CIAMPI, A. Y.; COELHO, A. S. G. **Development of microsatellite markers in *Annona crassiflora* Mart., a Brazilian Cerrado fruit tree species**. *Molecular Ecology Resources*, V. 8, pages 1329–1331, 2008.

POWELL, W.; MACHRAY, G. C.; PROVAN, J. **Polymorphism revealed by simple sequence repeats**. *Trends of Plants Science*, v.1, p.215-222, 1996.

RAJORA, O.P.; PLUHAR, S.A. **Genetic diversity impacts of forest fire, forest harvesting, and alternative reforestation practices in black spruce (*Picea mariana*).** Theoretical and Applied Genetics, v. 106, p. 1203-1212, 2003.

RATTER, J.A.; RICHARDS, P.W., ARGENT, G.; GIFFORD, D.R. **Observations on the vegetation oh northeastern Mato Grosso. I. The woody vegetation types of the Xavantina-Cachimbo Expedition area.***Phil. Trans.*, 226: 449-492, 1973.

RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S.; ATKINSON, R.; RIBEIRO, J.F. **Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation II: comparison of the woody vegetation of 98 areas.** Edinburgh Journal of Botany, 53, 153–180, 1996.

RATTER, J.A., RIBEIRO, J.F.; BRIDGEWATER, S. **The Brazilian cerrado**

RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. **Fitofisionomias do bioma cerrado. In Cerrado: ambiente e flora** (S.M. Sano & S.P. Almeida, eds). EMBRAPA-CPAC, Planaltina, p.89-166, 1998.

ROBINSON, I. P. **Aloenzimas na genética de populações de plantas.** In Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos (A.C. Alfenas, ed.). Editora UFV, Viçosa, p.329-380, 1998.

ROCHA, O. J.; LOBO, J. A. **Genetic diversity and outcrossing rates in the guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.)** In the dry forests of Costa Rica. In Recent Advances in Biotechnology for Tree Conservation and Management, Proceedings of an IFS Workshop. International Foundation for Science (IFS), Stockholm, p.65-81, 1998.

SALES, H. R.; SANTOS, R. M.; NUNES, Y. R. F.; MORAIS-COSTA, F.; SOUZA, S. C. A. **Caracterização florística de um fragmento de cerrado na APA Estadual do Rio Pandeiros - Bonito de Minas/MG.** MG-BIOTA, Belo Horizonte, v.2, n.3, 2009.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L.; FERREIRA, L. G. **Mapeamento semidetalhado (escala de 1: 250.000) da cobertura vegetal antrópica do Bioma Cerrado.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.43, n.1, p. 153-156, 2008.

SCHLOTTERER, C.; TAUTZ, D. **Slippage synthesis of simple sequence DNA.** Nucleic Acids Research, v. 20, n. 2, p. 211-215, 1992.

SCHNEIDER, S.; KUEFFER, J. M.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER L. **Arlequin, Version 1.1: A software for population genetic data analysis.** Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva Switzerland, 1997.

SILVA, M. C. **Diversidade genética, sistema de reprodução, estrutura genética espacial e fluxo gênico em *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. F. ex S.**

Moore. Tese Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

SILVA JÚNIOR, M. C. **100 Árvores do Cerrado: guia de campo.** Brasília, Ed. Rede de Sementes do Cerrado, 2005.

SILVA-JUNIOR, M. C.; FELFILI, J. M. **A vegetação da estação Ecológica de Águas Emendadas. Brasília, DF** : Instituto de Ecologia e Meio Ambiente de Distrito Federal, 43p. 1996.

SLATKIN, M. **Gene flow and the geographic structure of natural populations.** *Science* 236: 787-792, 1987.

SLATKIN, M. **Inbreeding coefficients and coalescence times.** *Genetic Research of Cambridge*, 58, 167 –175, 1991.

SLATKIN, M. **A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies.** *Genetics*, 139, 457 – 462, 1995.

SOARES, T. N.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; RESENDE, L. V. **Distribuição espacial da variabilidade genética intrapopulacional de *Dipteryx alata*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira (1977. Imprensa), v. 43, p. 1151-1158, 2008.

SOLÉ-CAVA, A. M. **Biodiversidade molecular e genética da conservação.** In: MATIOLI, S. R. (ed.). *Biologia Molecular e Evolução.* Ribeirão Preto: Holos, p.172-192, 2001.

TAUTZ, D. **Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers.** *Nucleic Acids Research*, v.17, n.16, p.6463-6471, 1989.

TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; VALVA, F. D.; BANDEIRA, L. F. **Caracterização genética de populações naturais de *Araticum (Annona crassiflora Mart. - Annonaceae)* no Estado de Goiás.** *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003a.

TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; VALVA, F. D. **Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. (cagaiteira - Myrtaceae) in Central Brazil: spatial analysis and implications for conservation and management.** *Conservation Genetics*, Netherlands, v. 4, p. 685-695, 2003b.

TELLES, M. P. C.; SILVA, S. P.; RAMOS, J.R.; SOARES, T. N.; MELO, D. B.; RESENDE, L. V. ; BATISTA, E. C; VASCONCELLOS, B. F. **Estrutura genética**

em populações naturais de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (pau-papel) em áreas de campo rupestre no cerrado. Revista Brasileira de Botânica (Impresso), v. 33, p. 289-298, 2010.

TELLES, M.P.C. ; PEIXOTO, F.P. ; LIMA, J.S. ; RESENDE, L.V. ; VIANELLO, R.P.; WALTER, M.E.M.T. ; COLLEVATTI, R.G. **Development of microsatellite markers for the endangered Neotropical tree species *Tibouchina papyrus* (Melastomataceae).** Genetics and Molecular Research, v. 10, p. 321-325, 2011.

VALDEZ, A. M.; SLATKIN, M.; FREIMER, N. B. **Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited.** *Genetics*. Mar; 133 (3): 737-749, 1993.

VÄLI, U.; EINARSSON, A.; WAITS, L.; ELLEGREN, H. **To what extent do Microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations?** 17, 3808–3817. *Molecular Ecology*, 2008.

WEBER, J. L.; MAY P. E. **Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction.** *Am J Hum Genet* 44:388-396, 1989.

WEBER, J. L. **Informativeness of human (dC-dA)n.(dG-dT)n polymorphisms.** *Genomics*, v.7, n.4, Aug, p.524-530. 1990.

WEBER, J.L.; WONG, C. **Mutation of human short tandem repeats.** *Hum. Mol. Genet.* 2: 1123-1128, 1993.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. **Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure.** *Evolution*, 38, 1358–1370, 1984.

WRIGHT, S. **The genetical structure of populations.** *Ann Eugen* 15: 323–354, 1951.

WRIGHT, S. **The interpretation of population structure by *F*-statistics with special regards to systems of mating.** *Evolution*, v. 19, p.395-420, 1965.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. **The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants.** *Trends in Ecology & Evolution*, 11: 413-418, 1996.

ZUCCHI, M. I.; BRONDANI, R. P. V.; PINHEIRO, J. B.; BRONDANI, C.; VENCOVSKY, R. **Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus spp.* to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family).** *Molecular Ecology Notes*, v. 2, p. 512-513. 2002.

ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.V.; PINHEIRO, J.B.; COELHO, A.S.G.; CHAVES, L.J.; VENCOVSKY, R. **Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC. in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers.** Genetics and Molecular Biology, v.26, p.449-458, 2003.