

## Variabilidade Genética em Populações Naturais de *Cassia grandis* L. f.

Itamara Bomfim Gois<sup>1</sup> , Robério Anastácio Ferreira<sup>2</sup>, Renata Silva-Mann<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa/MG, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Sergipe – UFS, São Cristóvão/SE, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe – UFS, São Cristóvão/SE, Brasil

### RESUMO

O delineamento de estratégias para a conservação genética de uma espécie requer o conhecimento de aspectos ecológicos e genéticos de suas populações. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar, por meio de marcadores isoenzimáticos, populações naturais de *Cassia grandis* L.f. A diversidade genética foi analisada a partir das frequências alélicas ( $\hat{P}_j$ ) e dos Índices de diversidade: Heterozigose média observada ( $\hat{H}_o$ ) e esperada ( $\hat{H}_e$ ), número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) e porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ); e a estrutura genética por meio das estatísticas  $F$  de Wright. Foram estimados o fluxo gênico, o tamanho efetivo das populações e a população mínima viável a curto e longo prazo. Com base nos resultados observados pode-se concluir que as populações estudadas de *C. grandis* estão estruturadas, o que pode ser comprovado pela observação de alelos raros e exclusivos e da alta diversidade genética entre as mesmas.

**Palavras-chave:** canafístula, isoenzimas, estrutura genética, conservação da biodiversidade.

### Genetic Variability in Natural Populations of *Cassia grandis* L. F.

### ABSTRACT

The design of strategies for genetic conservation requires knowledge of the ecologic and genetics aspects of the target species populations. This work aimed to characterize genetically natural populations of *Cassia grandis* L. F. using isozymes. Genetic diversity was analyzed by allele frequencies ( $\hat{P}_j$ ) and the following diversity indexes: observed ( $\hat{H}_o$ ) and expected ( $\hat{H}_e$ ) average heterozygosity, average number of alleles per locus ( $\hat{A}$ ) and percentage of polymorphic loci ( $\hat{P}$ ); and the genetic structure of populations by Wright's statistics. We estimated gene flow, population effective size and the minimum viable population in the short and long time. The observed results conclude that the studied populations of *C. grandis* are structured, which can be demonstrated by observation of rare and exclusive alleles, and high genetic diversity among them.

**Keywords:** canafistula, isozymes, genetic structure, biodiversity conservation.

## 1. INTRODUÇÃO

*Cassia grandis* L.f. (canafístula), pertencente à família Fabaceae, é uma espécie arbórea decídua, característica de mata secundária e da floresta primária aberta de terra firme (Oliveira et al., 1995; Carvalho, 2006). Na região do Baixo São Francisco, no Estado de Sergipe, a ocorrência desta espécie vai desde o município de Nossa Senhora de Lourdes (Alto Sertão) até à Foz do rio, no município de Brejo Grande. As populações ribeirinhas desta região utilizam seus frutos na medicina popular e sua madeira como lenha e carvão. Em razão do significativo extrativismo observado, que tem reduzido e comprometido as suas populações naturais, esta espécie tem sido empregada em programas de recuperação de áreas degradadas no Estado, na tentativa de se reverter esta situação.

A fragmentação florestal causada pela supressão de espécies florestais, sem um adequado plano de manejo, promove a formação de mosaicos de vegetação e, consequentemente, alterações nos processos ecológicos e genéticos das espécies (Kageyama & Gandara, 1998). Caso os fragmentos permaneçam pequenos e isolados por várias gerações, poderá haver um aumento da endogamia, da deriva genética e da divergência genética entre as populações, devido à restrição ao fluxo alélico entre as subpopulações, e aos cruzamentos entre os indivíduos remanescentes (Wright, 1949, 1951). Portanto, as estratégias de conservação/ recuperação das áreas degradadas devem ser elaboradas com base nas características ecológicas e genéticas das espécies-alvo.

No ramo da genética, os marcadores moleculares tem sido utilizados frequentemente para a estimativa de parâmetros de diversidade e estrutura genética de populações, como ferramenta para subsidiar a tomada de decisões nos projetos de conservação. Entre os marcadores moleculares utilizados em estudos de diversidade genética de populações naturais observam-se as isoenzimas, que são formas diferentes de uma mesma enzima que apresentam afinidade por um mesmo substrato (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A análise isoenzimática pode ser realizada para qualquer espécie e não requer o conhecimento prévio do genoma, o que a torna adequada para a caracterização da estrutura genética de populações naturais. Além disso, as isoenzimas apresentam ação gênica codominante, o que favorece a distinção entre

homozigotos e heterozigotos, o que torna possível a estimação de parâmetros genéticos (Brown & Weir, 1983; Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os marcadores isoenzimáticos, devido à sua natureza codominante, tem sido utilizados amplamente no estudo de espécies arbóreas florestais, principalmente na caracterização do sistema reprodutivo (Oliveira et al., 2002), da variabilidade genética (Botrel & Carvalho, 2004; Gois et al., 2009; Glasenapp et al., 2014;) e da estrutura genética de populações (Pinto et al., 2004; Moraes et al., 2005). Estes estudos aumentam o conhecimento do padrão genético de populações naturais, e, consequentemente, a eficiência das estratégias utilizadas para a conservação genética das espécies ameaçadas de extinção.

Na região do Baixo São Francisco sergipano diversas espécies tem sido estudadas do ponto de vista genético (Santana et al., 2008; Gois et al., 2009; Gois et al., 2014; Álvares-Carvalho et al., 2015), por meio de marcadores moleculares. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar geneticamente, por meio de marcadores isoenzimáticos, três populações naturais de *C. grandis* L.f., localizadas na região do Baixo São Francisco sergipano. Esses estudos serão úteis para subsidiar a elaboração de estratégias de conservação, coleta de sementes e produção de mudas para uso em trabalhos de recuperação de áreas degradadas, especialmente as ciliares desta região.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal

Para a coleta do material vegetal (folhas tenras) foi realizado um censo dos indivíduos presentes em três áreas localizadas em municípios do estado de Sergipe, Brasil: Nossa Senhora de Lourdes (oito indivíduos em uma área de 1,56 km<sup>2</sup> - 10°4'33.21"S e 37°0'27.85"O), localizado no Alto Sertão sergipano; Canhoba (treze indivíduos em uma área 1,40 km<sup>2</sup> - 10°8'15.54"S e 36°58'51.42"O), zona de transição entre a Caatinga e a Mata Atlântica; e Santana do São Francisco (dezoito indivíduos em uma área de 1 km<sup>2</sup> - 10°17'36.26"S e 36°36'38.31"O), Zona Costeira; perfazendo um total de 39 indivíduos. O material foliar coletado foi acondicionado em sacos plásticos, identificado, mantido sob refrigeração (caixa térmica) e levado ao Laboratório de Biotecnologia do Departamento de

Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe, onde foi realizada a extração das isoenzimas.

## 2.2. Análise isoenzimática

As isoenzimas foram extraídas por meio da maceração de 200 mg de folhas tenras com 0,5 mg de PVP (polivinil pirrolidone) e 1,5 mL da solução tampão de extração nº1, de acordo com metodologia descrita por Alfenas et al. (1991), modificado pela ausência de DIECA (Dietilditiocarbamato). A eletroforese vertical foi realizada em gel de poliacrilamida descontínuo, sendo o gel de concentração de 4,5% e o gel de separação de 7,5%, a 150 V com duração de quatro horas a 4 °C. O sistema tampão gel eletrodo foi o Tris-glicina pH 8,9. Os procedimentos de preparo do gel e eletroforese seguiram a metodologia descrita por Alfenas et al. (1991).

Ao término da corrida, os géis foram submetidos à coloração em enzimas específicas, sendo que neste processo foram testados catorze sistemas enzimáticos: Álcool Desidrogenase (ADH), Enzima Málica (ME), Esterase (EST), Fosfatase Alcalina (ALP),  $\beta$ -Galactose Desidrogenase (GLDH), Glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH), Glucose Desidrogenase (GLUDH), Glutamato Oxaloacetato Transaminase (GOT), Isocitrato desidrogenase (IDH), Malato Desidrogenase (MDH), Peroxidase (PO), Sorbitol Desidrogenase (SOD), Succinato Desidrogenase (SDH) e Xiquimato Desidrogenase (SKDH), seguindo a metodologia descrita por Alfenas et al. (1991).

## 2.3. Análise dos dados

Os genótipos de cada indivíduo analisado foram obtidos por meio da interpretação do zimograma. Os zimogramas obtidos no presente estudo foram comparados com os padrões descritos por Alfenas et al. (1991), sendo as zonas codificadoras dos locos e dos alelos feita da região mais catódica para a mais anódica.

A variabilidade genética foi caracterizada a partir das estimativas das frequências alélicas ( $\hat{P}_{ij}$ ) e dos Índices de diversidade genética: porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ); número médio de alelos por loco ( $\hat{\lambda}$ ); heterozigose média observada ( $\hat{H}_o$ ) e heterozigose média esperada ( $\hat{H}_e$ ) de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Com base nas estimativas das frequências observadas ( $\hat{H}_o$ ) e esperadas ( $\hat{H}_e$ )

de heterozigotos, calculou-se o índice de fixação de Wright ( $\hat{F}_{(IS)}$ ) ou o coeficiente de endogamia para cada população, por meio da fórmula:  $\hat{F}_{(IS)} = (\hat{H}_o - \hat{H}_e) / \hat{H}_e$ , que é definido como o total de heterozigose observada em relação à heterozigose esperada em cruzamentos ao acaso (Wright, 1965). Estes índices foram obtidos pelo programa Popgene (Yeh et al., 1999).

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações foi estimada pelas estatísticas  $F$  de Wright (1931, 1965), por meio dos índices de fixação médio dentro das populações ( $F_{IS}$  - coeficiente de endogamia de um indivíduo devido a cruzamentos não aleatórios dentro de populações); de fixação para o conjunto das populações ( $F_{IT}$  - coeficiente de endogamia de indivíduos no contexto da população total, ou seja, entre e dentro de populações); e de divergência genética entre populações ( $F_{ST}$  - coeficiente de endogamia devido à subdivisão da população total) (Resende, 2015).

A estimativa do fluxo alélico entre as populações foi obtida pela relação entre a quantidade de migrantes ( $\hat{N}_m$ ) e a divergência entre populações ( $\hat{F}_{ST}$ ), de acordo com Crow & Aoki (1984):  $\hat{N}_m = \frac{1}{4\alpha} \left( \frac{1}{\hat{F}_{ST}} - 1 \right)$ ; onde:  $\alpha = (n/(n-1))^2$ .

O tamanho efetivo populacional ( $\hat{N}_e$ ) foi estimado pelos métodos descritos por Vencovsky (1992) para duas diferentes situações. A primeira estimativa do  $\hat{N}_e$  para indivíduos adultos de uma simples população foi baseada na expressão:  $\hat{N}_e = \frac{n}{1+f}$ ; em que  $n$  é o número de indivíduos e  $f$  é o coeficiente de endogamia médio da população. A segunda estimativa do  $\hat{N}_e$  para várias populações foi baseada na expressão:  $\hat{N}_e = \frac{0,5}{\theta_p \left[ \frac{1+C_p}{n} - \frac{1}{n} \right] + \frac{1+F^n}{2n}}$ , em que  $\theta_p$  é a divergência genética entre populações;  $n$  é o número total de indivíduos avaliados nas populações;  $C_p$  é o quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos sobre as populações; e  $F$  é o índice de fixação para o conjunto de populações. Adicionalmente, calculou-se a população mínima viável (PMV), que corresponde ao número de indivíduos necessários para a manutenção da integridade genética da população, pela relação:  $PMV = \frac{\hat{N}_e(\text{referência})}{\hat{N}_e/n}$ . O tamanho efetivo de referência utilizado foi de 150 e 1.500, conforme proposto por Nunney & Campbell (1993), para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos catorze sistemas enzimáticos testados, dez foram selecionados, em função da resolução, para a caracterização da diversidade genética das populações de *Cassia grandis*. Os sistemas avaliados foram: EST, ME, ALP, GOT, G6PDH, IDH, MDH, PO, SKDH e SDH, nos quais foi possível detectar 15 locos. Nos sistemas ME, EST, IDH, MDH e PO foram observados dois locos e nos sistemas ALP, GOT, G6PDH, SKDH, e SDH apenas um (Tabela 1).

O número de locos polimórficos de marcadores isoenzimáticos utilizados em estudos de diversidade

genética em espécies arbóreas é bastante variável. Oliveira et al. (2006) estudaram a diversidade e estrutura genética em populações de *Caesalpinia echinata* Lam. com a utilização de onze locos polimórficos; Moraes & Derbyshire (2002) para estimar a diversidade genética em populações de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. utilizaram trinta e oito locos polimórficos. De acordo com Berg & Hamrick (1997) para os estudos de diversidade e estrutura genética por isoenzimas dez locos polimórficos são considerados suficientes.

Dos quinze locos avaliados (Tabela 1), dois foram monomórficos (*EST-2* e *MDH-1*), enquanto os demais apresentaram de dois a cinco alelos. O número de

**Tabela 1.** Locos isoenzimáticos, número de alelos e frequência alélica em três populações naturais de *Cassia grandis* L.f. localizadas na região do Baixo São Francisco sergipano.

**Table 1.** Isozyme loci, number of alleles and allele frequency in three natural populations of *Cassia grandis* L.f. located in the região do Baixo São Francisco sergipano.

Loco	Alelo	Populações		
		Santana do São Francisco	Canhoba	Nossa Senhora de Lourdes
EST-1	1	0,5000	0,3750	0,4167
	2	***	0,6250	0,5833
	3	0,0278	***	***
	4	0,1389	***	***
	5	0,3333	***	***
EST-2	1	***	***	1,0000
GOT-1	1	0,4231	0,4000	0,2143
	2	0,5769	0,6000	0,0714
	3	***	***	***
	4	***	***	0,2143
MDH-1	1	***	***	0,5000
	2	***	1,0000	***
MDH-2	1	0,0278	0,5000	0,3000
	2	0,4167	***	0,7000
	3	0,0556	0,5000	***
	4	0,0833	***	***
PO-1	1	0,4167	***	***
	2	1,0000	0,5000	0,4167
	3	***	0,1429	0,5833
	4	***	***	***
	5	***	0,3571	***
PO-2	1	***	***	0,5000
	2	***	***	0,5000
ME-1	1	0,1111	0,1923	0,5000
	2	0,2500	0,8077	0,5000
	3	0,6389	***	***
ME-2	1	***	0,2917	0,7000
	2	***	0,2917	0,3000
	3	***	0,4167	***

Tabela 1. Continuação...

Table 1. Continued...

Loco	Populações			
	Alelo	Santana do São Francisco	Canhoba	Nossa Senhora de Lourdes
SKDH	1	0,4444	0,2692	0,1429
	2	0,2222	0,1923	***
	3	0,3333	0,0385	0,3571
	4	***	0,5000	0,2857
	5	***	***	0,2143
ALP	1	0,5000	***	***
	2	0,0455	***	***
	3	0,4545	***	***
G6PDH-1	1	0,2000	0,3333	0,0833
	2	0,2000	0,4167	0,1667
	3	0,6000	0,2500	0,7500
IDH-1	1	***	0,5000	***
	2	***	***	***
	3	***	0,3125	***
	4	***	0,0625	***
	5	***	0,1250	***
IDH-2	1	0,5000	0,4615	0,5000
	2	***	0,0769	***
	3	0,5000	0,4615	0,5000
SDH-1	1	0,0833	0,4231	0,5000
	2	0,5000	0,1538	***
	3	0,4167	0,4231	0,5000
<b>Total de alelos</b>	52	29	32	28

alelos observados em cada população variou de vinte e oito a trinta e dois. A presença de alelos raros, fixados e exclusivos nas populações analisadas pode ser resultado direto do processo de fragmentação florestal. De acordo com Kageyama et al. (1998), as oscilações nas frequências alélicas são frequentemente observadas em populações pequenas, devido ao efeito da deriva genética, o que pode ocasionar a perda e fixação de alelos. Houve a fixação do alelo 1 do loco *EST-2* na população de Nossa Senhora de Lourdes; do alelo 1 do loco *MDH-1* na população de Canhoba; e do alelo 1 do loco *PO-1* na população de Santana do São Francisco. A presença de alelos raros ( $p < 0,05$ ), que também indica a perda da diversidade genética por meio da deriva genética (Kageyama et al., 1998), foi observada nas populações de Santana do São Francisco e Canhoba.

Foram detectados nove alelos exclusivos na população de Santana do São Francisco (alelos 3, 4 e 5 no loco *EST-1*; os alelos 4 e 5 no loco *MDH-2*; o alelo 3 no loco

*ME-1*; e os alelos 1, 2 e 3 no loco *ALP*), oito na população de Canhoba (o alelo 1 no loco *MDH-1*; o alelo 5 no loco *PO-1*; o alelo 3 no loco *ME-1*; os alelos 1, 3, 4 e 5 no loco *IDH-1*; e o alelo 2 no loco *IDH-2*) e cinco na população de Nossa Senhora de Lourdes (alelos 4 e 5 no loco *GOT-1*; os alelos 1 e 2 no loco *PO-2*; e o alelo 5 no loco *SKDH*). A presença de alelos exclusivos nas populações também é considerada um indicativo da ausência de fluxo alélico, ou seja, indica que há certa diferenciação entre as populações (Kageyama et al., 2003; Seoane et al., 2000).

A presença de alelos exclusivos e fixados pode também ser um indicativo de seleção, além de ser um indicativo de deriva genética. O efeito da seleção pode ser de natureza indireta, quando as isoenzimas estão associadas a alelos responsáveis pela expressão das características sob seleção; ou de natureza direta, quando as isoenzimas participam diretamente de rotas metabólicas que afetam tais características (Oliveira et al., 2002).



Os índices de diversidade genética para as populações de *C. grandis*, computadas a partir das frequências alélicas dos locos isoenzimáticos, estão apresentados na Tabela 2.

Observa-se que a porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ) variou de 60 a 73,33%. Os valores observados foram inferiores aos encontrados por Melo et al. (2004) em populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (100%) e superiores ao encontrado por Póvoa (2002) em populações de *Cedrela fissilis* Vell. (média de 48,72%). Hamrick & Murawski (1991) concluíram que espécies comuns apresentam em média 77% de locos polimórficos, já as espécies raras 42%. Nota-se que devido ao reduzido número de indivíduos presentes nas áreas de estudo, a espécie apresenta porcentagem de locos polimórficos superiores ao esperado.

O número médio de alelos por loco esperado para espécies que apresentam elevado tamanho e densidade populacional é alto, e baixo para espécies com baixa densidade populacional. Assim, observa-se que mesmo com tamanho populacional reduzido, o número de alelos por loco ( $n_a$ ) para as populações de *C. grandis* foi alto (variou de 2,2 a 2,9). Pode-se supor que a espécie que hoje é rara na área, era abundante no passado como sugerido por Kageyama et al. (2003). Valores próximos a este têm sido encontrados em outras espécies arbóreas (Cavallari Neto, 2004).

A heterozigose média observada ( $\hat{H}_0$ ) para as populações variou de 0,7806 a 0,8279; e a heterozigose esperada segundo as expectativas de Hardy-Weinberg - EHW ( $\hat{H}_e$ ) variou de 0,5116 a 0,5442. A heterozigose

observada foi maior do que a esperada em todas as populações, sugerindo excesso de heterozigotos em relação ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Moura et al., 2009). Estes resultados podem ser confirmados observando-se os valores encontrados para o índice de fixação de Wright ( $\hat{F}_{IS}$ ). Nas três populações analisadas os valores do índice de fixação foram negativos, demonstrando excesso de heterozigotos nas populações, o que favorece o aumento da plasticidade ecológica da espécie (Kawaguici & Kageyama, 2001). Valores negativos do índice de fixação têm sido observados em outras espécies arbóreas: *Caryocar brasiliense* Camb. (Melo et al., 2004), *Protium spruceanum* Benth. (Vieira & Carvalho, 2009) e *Stryphnodendron adstringens* Mart. (Glaserapp et al., 2014).

Os valores médios obtidos para as estatísticas F de Wright estão apresentados na Tabela 3.

A maior parte da diversidade genética encontra-se distribuída dentro das populações, embora exista grande variação entre as populações ( $\hat{F}_{ST}=0,3399$ ). Este padrão de distribuição está de acordo com o observado para outras espécies arbóreas e com o esperado em espécies alógamas ou de sistema misto, predominantemente alógamas, com eficiente mecanismo de dispersão de pólen e sementes (Kageyama et al., 2003). Caso da *C. grandis* que é uma espécie alógama, cuja dispersão dos polens é realizada por abelhas, e a dos frutos e sementes é classificada como barocórica, zoocórica e hidrocórica (Carvalho, 2006). Constata-se, portanto, que o processo antrópico pode interferir diretamente no padrão de diversidade genética observado, visto que, cria

**Tabela 2.** Índices de diversidade genética de três populações naturais de *Cassia grandis* L.f. localizadas na região do Baixo São Francisco sergipano, baseados em 15 locos e 10 sistemas isoenzimáticos.

**Table 2.** Genetic diversity index of three natural populations of *Cassia grandis* L. F. located in the região do Baixo São Francisco sergipano, based on 15 locos and 10 isozyme systems.

Índices de Diversidade Genética	Populações		
	Santana do São Francisco	Canhoba	Nossa Senhora de Lourdes
% de locos polimórficos - $\hat{P}$ (0,95)	60,00	73,33	73,33
Número médio de alelos por loco ( $n_a$ )	2,90 (1,10)	2,27 (0,80)	2,33 (0,80)
Número efetivos de alelo por loco ( $n_e$ )	2,20 (0,50)	2,25 (0,60)	2,04 (0,60)
Heterozigose média observada ( $\hat{H}_0$ )	0,79 (0,30)	0,83 (0,30)	0,78 (0,30)
Heterozigose média esperada ( $\hat{H}_e$ )	0,53 (0,10)	0,54 (0,20)	0,51 (0,10)
Índice de Fixação de Wright ( $\hat{F}_{IS}$ )	-0,55	-0,62	-0,67

barreiras ao fluxo de animais na área. Nas populações de *C. grandis* avaliadas apenas dois indivíduos poderão dispersar suas sementes de forma hidrocórica (estão na beira do rio).

O espaço paramétrico da estatística  $F_{ST}$  é de 0 (ausência de divergência genética entre as populações) a 1 (fixação de alelos em diferentes populações). No entanto, Wright (1978) classifica que quando a estatística  $F_{ST}$  apresenta valores superiores a 0,25 as populações apresentam alta diferenciação genética. De acordo com Wright (1951), o alto nível de diferenciação genética entre populações (0,3399) é decorrente de efeitos da deriva genética e da predominância de fluxo gênico em curtas distâncias, ou seja, fluxo gênico limitado, o que pode ocasionar o isolamento reprodutivo das mesmas. Devido a isto, as populações de espécies ameaçadas de extinção se encontram frequentemente estruturadas (Wright, 1932). Mesmo presente em fragmentos isolados a espécie *C. grandis* apresenta alta heterozigose ( $\hat{F}_{IT}=0,0666$ ), ou seja, as populações não apresentam cruzamentos entre indivíduos aparentados.

O fluxo alélico, número médio de migrantes por geração, entre as populações foi igual a 0,4855. Este valor representa o fluxo alélico ocorrido no passado, quando as florestas eram contínuas ou ocupavam grande

parte da extensão que as separam. Este isolamento, possivelmente, no futuro, refletirá em aumento na diferenciação entre populações por deriva genética (Wright, 1932). Segundo Wright (1951), quando a estimativa de fluxo alélico é menor que um, os efeitos da migração não são suficientes para contrapor os efeitos da deriva e, portanto, favorece a divergência entre populações.

O conhecimento do tamanho efetivo de uma população ou de um conjunto de populações ( $\hat{N}_e$ ) imprescindível para a elaboração de estratégias de conservação, uma vez que mede a representatividade genética dos indivíduos amostrados na população em relação a uma população panmítica ideal (Vencovsky, 1987). A partir da Tabela 4, pode-se pressupor que os dezoito indivíduos amostrados na população de Santana, os treze em Canhoba e os oito em Nossa Senhora de Lourdes, representam geneticamente 40, 34 e 24 indivíduos, respectivamente, de uma população panmítica ideal.

O tamanho efetivo foi superior ao número de indivíduos, resultado que está de acordo com os índices de fixação calculados, ou seja, não há cruzamento entre indivíduos aparentados, resultado também observado por Oliveira et al. (2002) estudando populações naturais de

**Tabela 3.** Estimativas das estatísticas F de Wright ( $\hat{F}_{IS}$ ,  $\hat{F}_{IT}$  e  $\hat{F}_{ST}$ ) e fluxo gênico para três populações naturais de *Cassia grandis* L.f., localizadas na região do Baixo São Francisco sergipano.

**Table 3.** Estimates of Wright's F statistics ( $\hat{F}_{IS}$ ,  $\hat{F}_{IT}$  e  $\hat{F}_{ST}$ ) and gene flow for three natural populations of *Cassia grandis* L. F., located in the região do Baixo São Francisco sergipano.

Parâmetros	Estimativas
Índice de fixação médio dentro das populações ( $\hat{F}_{IS}$ )	-0,6158
Índice de fixação para o conjunto das populações ( $\hat{F}_{IT}$ )	-0,0666
Divergência genética entre populações ( $\hat{F}_{ST}$ )	0,3399
Fluxo alélico ( $\hat{N}_m$ )	0,4855

**Tabela 4.** Tamanho efetivo ( $\hat{N}_e$ ) número de indivíduos (N) de três populações naturais de *Cassia grandis* L.f., localizadas na região do Baixo São Francisco sergipano.

**Table 4.** Effective size ( $\hat{N}_e$ ) and number of individuals (N) of three natural populations of *Cassia grandis* L. F., located in the região do Baixo São Francisco sergipano.

População	N	Índice de Fixação	$\hat{N}_e$	V 150*	PMV 1500*
Santana do São Francisco	18	-0,5533	40	67	681
Canhoba	13	-0,6210	34	58	575
N. Senhora de Lourdes	8	-0,6748	24	50	500
Conjunto de populações	39	-0,6158	78	75	750

\*Tamanho efetivo de referência ( $\hat{N}_{e (referência)}$ ) = 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

*Copaiifera langsdorffii* Desf. De acordo com o resultado obtido para o conjunto das populações, a coleta de sementes, para conservação *ex situ*, deverá contemplar, pelo menos, 78 árvores matrizes, garantindo, assim, a manutenção da variabilidade genética.

Porém, conforme afirma Eguiarte et al. (2007), é importante salientar que os níveis de variabilidade genética observados em populações naturais nem sempre correspondem ao predito na teoria, já que algumas espécies com alta variabilidade têm pequenas populações e estão demograficamente em perigo. Esta situação pode ser observada para as populações de *C. grandis* analisadas.

A população mínima viável para o conjunto de populações é de 75 e 750 indivíduos, para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente. Estes valores correspondem ao número mínimo de árvores que deverão ser mantidas, visando assegurar a manutenção dos níveis de variabilidade genética em populações naturais (Moura, 2005).

As estratégias de conservação de espécies presentes em áreas fragmentadas, como a *C. grandis*, tem como propósito a manutenção dos níveis de variabilidade genética encontradas em populações naturais, além de um número mínimo viável de indivíduos para que as populações permaneçam viáveis no tempo e no espaço (Vencovsky, 1987; Nunney & Campbell, 1993). Portanto, o conhecimento da diversidade genética, aliada ao conhecimento dos padrões ecológicos das espécies propicia o delineamento de estratégias mais eficientes de conservação. Com os resultados observados neste estudo, observa-se que a *C. grandis* apresenta altos níveis de diversidade genética dentro e entre as populações, apesar do reduzido número de indivíduos observados nas áreas.

Assim, as estratégias de conservação devem visar à manutenção dos indivíduos observados nas áreas, além do enriquecimento das mesmas com alelos de outras populações, por meio da dispersão de sementes (técnicas de nucleação) ou plantio de mudas. A propagação de *C. grandis* é limitada devido à presença de dormência tegumentar e, sem nenhum tratamento para quebra desta dormência a mesma apresenta taxa de germinação de 5% (Lopes et al., 1998). Assim, a produção de mudas viabiliza o aumento do número de indivíduos na área, uma vez que, com tratamento mecânico (escarificação mecânica) a taxa de germinação é de

90% (Lopes et al., 1998). A adoção desta estratégia aliada aos dados de diversidade genética dos indivíduos analisados irá aumentar a eficiência dos projetos de conservação para as áreas estudadas.

#### 4. CONCLUSÕES

O isolamento das populações devido ao processo de fragmentação da vegetação na região do Baixo São Francisco sergipano favorece a estruturação das populações de *C. grandis*, fato constatado pela presença de alelos raros e exclusivos.

O tamanho efetivo da população é maior do que o número de indivíduos presentes nas populações, evidenciando a alta variabilidade genética presente dentro e entre as populações. Consequentemente, a necessidade de conservação dos indivíduos remanescentes e a utilização dos mesmos em programas de recuperação de áreas degradadas são essenciais para a manutenção da integridade genética das populações.

A redução do número de indivíduos abaixo do mínimo viável indica que a introdução de imigrantes deve ser considerada para contornar os efeitos da deriva genética. E, para a *C. grandis* a introdução por meio do plantio de mudas advindas de indivíduos pertencentes a outras populações aumentará a eficiência dos projetos de conservação.

#### STATUS DA SUBMISSÃO

Recebido: 23 jun., 2016

Aceito: 6 dez., 2016

#### AUTOR(ES) PARA CORRESPONDÊNCIA

##### **Itamara Bomfim Gois**

Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil  
e-mail: itamarafloresta@gmail.com

#### REFERÊNCIAS

- Alfenas AC, Peters I, Brune W, Passador CG. *Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais*. 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1991.
- Álvares-Carvalho SV, Duarte JF, Carvalho D, Pereira GS, Silva-Mann R, Ferreira RA. *Schinus terebinthifolius*:



- population structure and implications for its conservation. *Biochemical Systematics and Ecology* 2015; 58: 120-125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2014.10.002>.
- Berg EE, Hamrick JL. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Canadian Journal of Forest Research* 1997; 27(3): 415-424. <http://dx.doi.org/10.1139/x96-195>.
- Botrel MC, Carvalho D. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). *Revista Brasileira de Botânica. Brazilian Journal of Botany* 2004; 27(4): 621-627. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042004000400002>.
- Brown AHD, Weir BA. Measuring genetic variability in plant populations. In: Tanksley SD & Orton TJ, editores. *Isozymes in plant genetics and breeding*. Amsterdam: Elsevier; 1983.
- Carvalho PER. *Cássia-Rósea – Cassia grandis*. Colombo: Embrapa; 2006. (Circular técnica; no. 117).
- Cavallari Neto M. *Efeito do manejo na diversidade genética de populações naturais de Tabebuia cassinoides Lam. (DC), por marcadores isoenzimáticos* [dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2004.
- Crow JF, Aoki K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1984; 81(19): 6073-6077. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.81.19.6073> PMID:6592602.
- Eguarte L, Souza V, Aguirre X. *La ecología molecular de plantas y animales*. 1. ed. México: INE/ Conabio; 2007.
- Ferreira ME, Grattapaglia D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen; 1998.
- Glazenapp JS, Casali VWC, Martins ER, Cruz CD, Barbosa PB. Descrição da diversidade genética de populações naturais de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em unidades de conservação de Minas Gerais. *Revista Árvore* 2014; 38(1): 103-112. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000100010>.
- Gois IB, Ferreira RA, Silva-Mann R, Pantaleão SM, Gois CB, Oliveira RSC. Variabilidade genética em populações naturais de *Ziziphus joazeiro* Mart., por meio de marcadores moleculares RAPD. *Revista Árvore* 2014; 38(4): 621-630. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000400005>.
- Gois IB, Silva-Mann R, Ferreira RA. Variabilidade genética de *Spondias lutea* L. em uma população do Baixo São Francisco sergipano, por meio de isoenzimas. *Scientia Forestalis* 2009; 37(81): 55-60.
- Hamrick JL, Murawski DA. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology* 1991; 7(03): 395-399. <http://dx.doi.org/10.1017/S0266467400005691>.
- Kageyama PY, Gandara FB, Souza LI. Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. *Série Técnica IPEF* 1998; 12(32): 65-70.
- Kageyama PY, Gandara FB. Indicadores de sustentabilidade de florestas naturais. *Série Técnica IPEF* 1998; 12(31): 79-84.
- Kageyama PY, Sebbenn AM, Ribas LA, Gandara FB, Castellen M, Percim MB et al. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. *Scientia Forestalis* 2003; 64: 93-107.
- Kawaguici CB, Kageyama PY. Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* em uma população de mata de galeria. *Scientia Forestalis* 2001; 59: 131-143.
- Lopes JC, Capucho MT, Krohling B, Zanotti P. Germinação de espécies florestais de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachia* Benth., *Cassia grandis* L. e *Samanea saman* Merrill, após tratamentos para superar a dormência. *Revista Brasileira de Sementes* 1998; 20(1): 80-86. <http://dx.doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v20n1p80-86>.
- Melo AF Jr, Carvalho D, Póvoa JSR, Bearzoti E. Estrutura genética de populações naturais de pequi ( *Caryocarpus brasiliense* Camb.). *Scientia Forestalis* 2004; 66: 56-65.
- Moraes MLT, Kageyama PY, Sebbenn AM. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob diferentes condições antrópicas. *Revista Árvore* 2005; 29(2): 281-289. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622005000200011>.
- Moraes PLR, Derbyshire MTVC. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. *Biota Neotropica* 2002; 2(2): 1-19.
- Moura MC. *Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de Eremanthus erythropappus (DC.) MacLeish por isoenzimas e RAPD* [tese] Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2005.
- Moura TM, Sebbenn AM, Chaves LJ, Coelho ASG, Oliveira GCX, Kageyama PY. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microsatélites. *Scientia Forestalis* 2009; 37(82): 143-150.
- Nunney L, Campbell KA. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 1993; 8(7): 234-239. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90197-W](http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347(93)90197-W) PMID:21236157.
- Oliveira A Fo, Vilela EA, Carvalho DA, Gavilanes ML. *Estudos florísticos e fitossociológicos em remanescentes de matas ciliares do Alto e Médio Rio Grande*. Belo Horizonte: CEMIG; 1995.
- Oliveira AF, Carvalho D, Rosado SCS. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. *Revista Brasileira de Botânica. Brazilian Journal of Botany* 2002; 25(3): 331-338. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042002000300009>.

- Oliveira CAM, Silva EF, Molica SG, Ferreira RLC, Lira DAS, Barros Júnior JAB. Diversidade e estrutura genética em populações de *Caesalpinia echinata* (Lam.) na Estação Ecológica do Tapacurá, PE. *Scientia Forestalis* 2006; 70: 77-83.
- Pinto SIC, Souza AM, Carvalho D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. *Scientia Forestalis* 2004; 65: 40-48.
- Póvoa JSR. *Distribuição da variação genética de Cedrela fissilis Vell., em fragmentos florestais, no sul de Minas Gerais, por meio de isoenzimas* [tese]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2002. 78 p.
- Resende MDV. *Genética quantitativa e de populações*. 1. ed. Viçosa: Suprema; 2015.
- Santana GC, Mann RS, Ferreira RA, Gois IB, Oliveira AS, Boari AJ et al. Diversidade genética de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. no Baixo Rio São Francisco, por meio de marcadores RAPD. *Revista Árvore* 2008; 32(3): 427-433. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622008000300005>.
- Seoane CES, Kageyama PY, Sebben AM. Efeitos da fragmentação florestal na estrutura genética de populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Guarantã). *Scientia Forestalis* 2000; 57: 123-139.
- Vencovsky R. Análise de variância de frequências alélicas. *Genetics and Molecular Biology* 1992; 15: 53-60.
- Vencovsky R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamias. *Scientia Forestalis* 1987; 35: 79-84.
- Vieira FA, Carvalho D. Genetic differentiation of the neotropical tree species *Protium spruceanum* (Benth.) Engler (Burseraceae) between fragments and vegetation corridors in Brazilian Atlantic Forest. *Acta Botanica Brasílica* 2009; 23(4): 1180-1185. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062009000400028>.
- Wright S. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 1931; 16(2): 97-159. PMID:17246615.
- Wright S. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding, and selection in evolution. In: Jones DF, editor *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics*. Menasha: Brooklyn Botanic Garden; 1932. p. 356-366.
- Wright S. Population structure in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society* 1949; 93(6): 471-478. PMID:15398807.
- Wright S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 1951; 15(4): 323-420. PMID:24540312.
- Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 1965; 19(3): 395-420. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x>.
- Wright S. *Evolution and genetics of populations: variability within and among natural populations*. Chicago: University of Chicago Press; 1978.
- Yeh FC, Yang R, Boyle T. *POPGENE version 1.32: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis*. Edmonton: University of Alberta; 1999.