

**PARÂMETROS GENÉTICOS PARA A CONSERVAÇÃO DE *Hymenaea courbaril* L. NA  
AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL**

**GENETIC PARAMETERS FOR *Hymenaea courbaril* L. CONSERVATION IN SOUTHWESTERN  
AMAZON**

Susana Maria Melo Silva<sup>1</sup> Karina Martins<sup>2</sup> Antônio Gilson Gomes Mesquita<sup>3</sup>  
Lucia Helena de Oliveira Wadt<sup>4</sup>

**RESUMO**

A perda de diversidade em regiões tropicais tem sido pauta em diversas discussões governamentais e não governamentais, com foco principalmente na fragmentação e destruição de ecossistemas naturais. No entanto, tomadas de decisões sobre a conservação de recursos genéticos precisam ser pautadas em parâmetros genéticos populacionais, especialmente para as espécies com interesse econômico que são alvo de maior interferência humana. Este trabalho teve como objetivo definir e avaliar parâmetros genéticos para a conservação de populações de jatobá (*Hymenaea courbaril*) na região sul-ocidental da Amazônia brasileira. A espécie é uma das que possuem madeira mais valiosa e é uma das mais intensamente exploradas na Amazônia brasileira. O estudo foi realizado em três áreas de florestas preparadas para a exploração madeireira, segundo plano de manejo sustentável. Calculou-se, com uso de oito locos de marcadores microssatélites, a diversidade genética, os estimadores para a conservação da espécie e a divergência entre as populações. As populações com menor densidade populacional (< 0,08 ind.ha<sup>-1</sup>) apresentaram maior diversidade genética e índice de fixação elevado. A população com maior densidade populacional (0,25 ind.ha<sup>-1</sup>) foi a que apresentou menor diversidade genética e ausência de endogamia. A Área Mínima Viável para conservação da espécie foi compatível com a realidade do local de estudo, com uma ressalva de uma das populações onde há necessidade de uma área muito maior em relação às demais. A divergência genética foi elevada ( $G'_{ST} = 0,344$ ) e as populações foram classificadas como Unidades Independentes para o Manejo.

**Palavras-chave:** conservação genética; diversidade genética; estratégias para conservação; *Hymenaea courbaril*.

**ABSTRACT**

The loss of diversity in tropical regions has been focus on several governmental and non-governmental discussions, focusing mainly on the fragmentation and destruction of natural ecosystems. However, decisions about the conservation of genetic resources must be guided by population genetic parameters, especially for species with economic interests that are subject to greater human interference. This study aimed to define and evaluate genetic parameters for the conservation of populations of *Hymenaea courbaril* in southwestern Amazon. This species is one of the most valuable and intensively exploited wood species in the Brazilian Amazon. We studied three forest areas prepared for logging in the background of sustainable management. It was calculated with eight microsatellite loci, genetic diversity, intra-population conservation estimators and genetic divergence among populations. Genetic diversity and fixation index were higher in the low density populations (< 0.08 ind.ha<sup>-1</sup>). The most density population (0.25 ind.ha<sup>-1</sup>) showed the lowest genetic diversity and no inbreeding. The Minimum Viable Area for species conservation was consistent

1 Bióloga, Mestra em Agronomia pela Universidade Federal do Acre, Rua Maria da Conceição, 134, Bairro Estação Experimental, CEP 69915-026, Rio Branco (AC), Brasil. susanammelo@hotmail.com

2 Bióloga, Dr., Professora Adjunta do Departamento de Biologia, Universidade Federal de São Carlos, Rod. João Leme dos Santos, Km 110, CEP 18052-780, Sorocaba (SP), Brasil. karimartins@yahoo.com

3 Biólogo, Dr., Professor Associado do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, BR 364, Km 04, Distrito Industrial, CEP 69915-900, Rio Branco (AC), Brasil. mesquitaagg@ufac.br

4 Engenheira Florestal, Dr<sup>a</sup>, Pesquisadora A da Embrapa Acre, BR 364, Km 14, Caixa Postal 321, CEP 69908-970, Rio Branco (AC), Brasil. lucia.wadt@satra.eti.br

Recebido para publicação em 8/08/2010 e aceito em 11/12/2012

with the reality of the studied areas, with a proviso for one of the populations where there is a need for a much larger area than the other to conserve populations. The genetic divergence was high ( $G'_{ST} = 0.344$ ) and the populations were considered Independent Management Units.

**Keywords:** genetic conservation; genetic diversity; strategies for conservation; *Hymenaea courbaril*.

## INTRODUÇÃO

A biodiversidade é representada pela variedade de ecossistemas, espécies, populações das espécies, bem como a diversidade genética existente entre e dentro de populações (FRANKHAM et al., 2008). A maior diversidade de espécies é encontrada nas florestas tropicais. Embora essas ocupem apenas 7% da extensão da Terra, estima-se que contenham mais de 50% do total das espécies existentes (PRIMACK e RODRIGUES, 2001). O aumento global da população humana nos últimos 200 anos tem provocado um incremento na taxa de destruição florestal e degradação. Adicionalmente, a extensão de florestas expostas a distúrbios humanos intensivos tem se ampliado cada vez mais, com uma pressão recente nos ecossistemas tropicais, os quais abrangem uma elevada riqueza de espécies (YOUNG e BOYLE, 2000). A diversidade biológica das regiões tropicais está sendo rapidamente reduzida e a degradação dos ecossistemas vem preocupando cada vez mais a sociedade. Discussões e estudos voltados para essa temática têm mobilizado instituições governamentais e comunidades científicas (TELLES, 2000; FRANKHAM et al., 2008). Torna-se necessário determinar a escala de estudo para definir os critérios adequados de avaliação dos efeitos de ações antrópicas nos ecossistemas e estabelecer as estratégias de conservação da biodiversidade. A comunidade representa o nível mais complexo de estudo da diversidade, uma vez que engloba a interação dinâmica entre espécies, indivíduos e genes. O estudo de uma espécie particular engloba a diversidade dos genes nas populações e proporciona a medida do grau de diversidade de uma comunidade, uma vez que espécies são entidades que podem ser identificadas, classificadas e contadas. A população é a unidade básica de conservação no nível de espécies individuais (FRANKEL et al., 1995).

Para as plantas, os efeitos genéticos da fragmentação e perda de *habitat* são ainda mais complicados por elas serem sésseis, apresentarem diferenças interespecíficas de longevidade e tempo de geração, bem como a densidade populacional antes da fragmentação. Adicionalmente, as plantas apre-

sentam uma ampla variedade de sistemas reprodutivos sexuais e assexuais, apresentam a possibilidade de fluxo gênico via pólen e semente, podem estocar material genético na forma de banco de sementes, bem como suas interações com seus vetores animais de pólen e sementes, que, por sua vez, também são afetados pela fragmentação florestal (YOUNG et al., 1996). O principal desafio da biologia de populações em conservação é identificar os fatores de risco genéticos e demográficos cruciais aos quais as populações estão sujeitas (JAIN, 1994). A conservação da diversidade genética é uma pré-condição necessária à manutenção de todos os outros níveis da biodiversidade, e é um componente essencial da sustentabilidade das populações (BOYLE, 2000; NAMKOONG et al., 2002). A redução nos *habitat* naturais e o subsequente isolamento espacial das populações causam alterações em processos evolucionários básicos, como deriva genética, seleção, migração e reprodução, os quais resultam em mudanças na diversidade genética. Portanto, para evitar extinções e para manter os níveis de diversidade genética é necessário que esses processos evolucionários estejam conservados (NAMKOONG et al., 2002). Nesse sentido, é importante conhecer a diversidade genética existente e também como esta se organiza em populações (RAJORA et al., 2000) tanto para o monitoramento, como para a tomada de decisão sobre uso e conservação.

*Hymenaea courbaril* é uma espécie arbórea tropical, hermafrodita, polinizada por morcegos e amplamente distribuída nos trópicos. Ocorre naturalmente do litoral sul brasileiro à costa ocidental da região central do México, ocupando a maior parte da Bacia Amazônica e do Planalto Central Brasileiro (LACERDA et al., 2008a). A espécie geralmente ocorre em baixas densidades populacionais ( $< 1$  árvore/ha). A principal utilização econômica é a madeira que está entre as mais valiosas e mais intensamente exploradas (mais de 90% das árvores com  $DAP \geq 50$  cm) na Amazônia brasileira (LACERDA, 2008a). *Hymenaea courbaril* enquadra-se em duas categorias de recursos genéticos florestais importantes para a conservação *in situ*, o de espécie arbórea de interesse econômico e o de espécie de importância para a sustentabilidade do

ecossistema (FAO, 1995). Alguns estudos têm mostrado que a espécie sofre efeitos negativos devido a ações antrópicas como a fragmentação de *habitat* e a exploração madeireira, já que em algumas populações tem sido observada a perda de diversidade genética (CASTELLENN, 2005; TOLEDO, 2005), a ocorrência de endogamia (KAGEYAMA et al., 2004) e o aumento da estrutura genética espacial (LACERDA et al., 2008b).

Este trabalho teve como objetivo definir parâmetros genéticos para a conservação de *Hymenaea courbaril* em populações localizadas na Amazônia sul-ocidental brasileira.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Áreas de estudo e amostragem

O estudo foi realizado na região sul-ocidental da Amazônia brasileira, em três propriedades particulares localizadas nos municípios de Lábrea (AM), Capixaba (AC) e Porto Acre (AC). A região onde estão as fazendas de Lábrea (coord. UTM 19L 8961878/819218) e Capixaba (coord. UTM 19L 0610821/8835940) apresenta vegetação primária equatorial úmida, com várias espécies de dossel e presença de palmeiras e bambu. As fazendas estão inseridas em áreas contínuas de florestas com a presença de pastagem e fazem divisa com outras propriedades semelhantes, sendo que a fazenda de Lábrea apresenta em um dos seus lados uma terra indígena. A fazenda de Porto Acre (coord. UTM 19L 8942848/651134) também apresenta vegetação primária equatorial úmida do tipo floresta aberta com palmeiras e regiões de baixio (área alagada), com presença de igapós. Também está inserida num mosaico de floresta contínua com áreas de pastagem. Nos municípios de Lábrea (AM) e Capixaba (AC), as coletas foram realizadas nos meses de janeiro e março de 2008 e em Porto Acre (AC) no mês de março de 2009. Os dados foram coletados em talhões de exploração florestal antes da extração madeireira e o sistema de manejo florestal adotado nestas áreas segue as diretrizes da lei nº11284 art.3/2006 (IBAMA, 2006). Cada população fica em média 200 km de distância em linha reta, uma da outra. A Tabela 1 apresenta a área total das fazendas e dos talhões onde foram feitas as coletas.

Os talhões foram definidos pela equipe do manejo florestal de cada fazenda e os dados do inventário para exploração florestal foram utiliza-

TABELA 1: Área total das fazendas e dos respectivos talhões estudados.

TABLE 1: Total area of farms and studied plots.

Local de estudo	Área total da fazenda (ha)	Área do talhão estudado (ha)
Lábrea (AM)	8000	428
Capixaba (AC)	2200	1000
Porto Acre (AC)	1500	328

dos para localização de todas as árvores de jatobá (*Hymenaea courbaril*) presentes nos talhões. Durante as coletas, identificaram-se árvores inventariadas como jatobá, mas que na realidade eram de outra espécie. Essas árvores não foram consideradas no estudo.

Foram amostradas 160 árvores com diâmetro a altura do peito (DAP) maior que 30 cm, dos quais foi coletada uma amostra de tecido de entrecasca do tronco com o auxílio de um formão e uma pinça de aço inox. Imediatamente após a coleta dos tecidos, estes foram imersos em microtubos contendo 1,0 ml de tampão de transporte (30% de tampão de extração CTAB a 2% e 70% de etanol absoluto) e levados para o Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular (LABMOL) da Embrapa Acre (Rio Branco-AC) onde foram armazenadas a -20°C para posterior extração de DNA. Tanto a coleta, como o transporte, foram feitos em recipiente térmico com gelo.

### Análises laboratoriais

A extração do DNA genômico foi realizada no LABMOL utilizando o protocolo CTAB 2% (DOYLE e DOYLE, 1987) adaptado por Ferreira e Grattapaglia (1998), sendo que os tecidos foram macerados em um equipamento de ruptura de células (Tissue Lyser® - Qiagen) por 1min30s na frequência de 30 Hertz. Depois de extraído, o DNA foi quantificado por comparação das amostras com diluições do DNA padrão do fago  $\lambda$  de peso molecular conhecido (10 a 200 ng), após eletroforese horizontal em gel de agarose a 1% por 20 min, sob 77 V e 45 mA. Após a quantificação, o DNA foi diluído em água ultrapura para 2,5 ng/ $\mu$ L. Para as análises genéticas foram utilizados oito pares de iniciadores microssatélites para *Hymenaea courbaril*, sendo seis desenvolvidos por Ciampi et al. (2008) e os outros dois ainda não publicados, desenvolvidos pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia.

As reações de amplificação (PCR) foram feitas utilizando volume final de 13  $\mu$ l, contendo 5 ng de DNA genômico, tampão para PCR 1X (10mM de Tris-HCl, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50mM KCl, pH 8,3), 2,5  $\mu$ g/mL de BSA, 2,5  $\mu$ M de dNTPs, 0,9  $\mu$ M de *primer*, 1U de *Taq* DNA Polimerase (Phoentria) e água ultrapura em termociclador MJ Research 96+. O protocolo de amplificação foi de: 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, temperatura de hibridação específica de cada par de iniciadores por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, terminando com uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Após a PCR, os fragmentos amplificados foram separados em gel desnaturante de poli-acrilamida a 5%, em cuba vertical contendo tampão TBE 1X sob 1600 V e 40 mA. A corrida eletroforética ocorreu por uma hora. Para colocação das bandas, utilizou-se nitrato de prata, segundo o protocolo desenvolvido por Creste et al. (2001). A interpretação dos fragmentos amplificados foi realizada visualmente por meio de comparação com marcador de peso molecular padrão 10-pb "Ladder" da Invitrogen®. Os fragmentos que apresentaram diferentes pesos moleculares foram considerados alelos diferentes.

### Diversidade genética intrapopulacional

A diversidade genética das populações foi analisada pela heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $H_e$ ), número médio de alelos por loco ( $A$ ) e índice de fixação de Wright ( $f$ ), que pode variar de -1 a 1, sendo os valores negativos indicativos de excesso de heterozigosidade e valores positivos deficiência de heterozigosidade. Os intervalos de confiança ao nível de 95% de probabilidade para  $f$  foram obtidos com o procedimento de 10.000 reamostragens do tipo "bootstrap" sobre locos. Todas estas estimativas foram obtidas pelo programa GDA (LEWIS e ZAYKIN, 2001). A significância estatística dos valores de  $f$  foi avaliada pelo Teste  $G$  com 1000 permutações, utilizando uma correção de Bonferroni (95%,  $\alpha = 0,05$ ) com uso do FSTAT (GOUDET, 1995). Esse programa foi utilizado ainda para calcular a Riqueza Alélica ( $R_s$ ), proposta por El Mousadik e Petit (1996), que mede o número médio de alelos independente do tamanho amostral. O número efetivo de alelos ( $A_e$ ) foi calculado utilizando a fórmula:  $A_e = 1/(1-H_e)$ .

O excesso de homozigotos foi avaliado para cada loco comparando-se as frequências ob-

servadas de homozigotos para os diferentes alelos de cada loco nas três populações e as frequências esperadas, obtidas por um procedimento de aleatorização. Finalmente, o teste de probabilidade combinada de Fisher foi utilizado para testar a significância do excesso de homozigotos nos locos. Em locos microssatélites, além da ocorrência de endogamia, o excesso de homozigotos pode ser resultante da ocorrência de alelos nulos (alelos não vistos na genotipagem em virtude de mutações nas sequências iniciadoras), pela amplificação preferencial de alelos pequenos e por erros de genotipagem devido à presença de "stutter" (bandas sombras ou resultantes do deslize da *Taq* polimerase). Quando houve confirmação do excesso de homozigotos, a frequência de alelos nulos ( $r$ ) foi calculada usando o estimador nº 2 de Brookfield (1996), sendo as análises realizadas pelo programa Micro Checker versão 2.2.3 (OOSTERHOUT et al., 2004).

### Estimadores para estratégias de conservação

O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) foi obtido com base no valor de  $f$  e, na existência de coancestria entre indivíduos ( $\theta_{xy}$ ) dentro das populações, segundo Sebbenn e Seoane (2005):

$$N_e = \frac{0,5n^2}{(1+f)(0,5n + \sum_{x=1}^n \sum_{y \neq 1}^n \theta_{xy})}$$

Em que:

$\sum_{x=1}^n \sum_{y \neq 1}^n \theta_{xy}$  corresponde à soma de todas as estimativas de coancestrias entre os pares de indivíduos de uma população,  $n$  o tamanho amostral e  $f$  a estimativa do índice de fixação da população.

O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), o tamanho efetivo de referência ( $N_{e(ref)}$ ), a densidade populacional ( $d$ ) e o número amostral ( $n$ ) foram considerados para o cálculo da Área Mínima Viável ( $AMV$ ) para conservação genética *in situ* das três populações naturais, utilizando-se a expressão apresentada por Sebbenn (2003b):  $AMV = nN_{e(ref)} / dN_e$ . O  $N_{e(ref)}$  foi considerado 1000. De acordo com Lynch (1996), a variância genética média (decorrente da deriva genética) torna-se independente do tamanho populacional quando o tamanho efetivo excede 1000 indivíduos, sendo esse limite adequado para a conservação em longo prazo.

### Estrutura genética populacional

A estrutura genética entre populações foi estimada por  $G'_{ST}$  proposta por Hedrick (2005):

$$G'_{ST} = \frac{G_{ST}(1 + H_s)}{(1 - H_s)}$$

Em que:  $G_{ST}$  é a divergência genética entre populações e  $H_s$  é a diversidade média intrapopulacional, de acordo com Nei (1987). Para obtenção dessas estimativas, utilizou-se o programa FSTAT (GOUDET, 1995). Valores próximos a zero indicam baixa divergência genética entre as populações e valores próximos a um indicam alta divergência genética entre as populações. Estimou-se ainda a divergência genética ( $R_{ST}$ ) segundo Slatkin (1995), mais adequada para estimativa da divergência genética entre populações quando se utilizam marcadores microssatélites. O intervalo de confiança a 95% para  $R_{ST}$  foi obtido por 1000 reamostragens “bootstrap” sobre locos. Testes de permutação foram realizados para determinar se os valores observados de  $R_{ST}$  diferiram significativamente de zero. As análises foram realizadas com o programa RstCalc (GOODMAN, 1997).

A divergência genética entre as três populações foi calculada com o objetivo de verificar se cada população pode ser considerada uma Unidade Independente para o Manejo (UIM), segundo Palsboll et al. (2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Diversidade genética intrapopulacional

O número total de alelos identificados nos 160 indivíduos de *Hymenaea courbaril* das três populações foi 107. Todos os oito locos foram polimórficos, com heterozigosidade observada variando de 0,144 a 0,993 (Tabela 2). O número médio de alelos por loco foi 13,4 com grande variação entre Locos. A diversidade gênica expressa pela heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) foi alta para a maioria dos locos, resultando em uma  $H_e$  média de 0,730. O índice de fixação ( $f$ ) variou Locos com tendência ao excesso de homozigose em cinco dos Locos (Tabela 2). Entretanto, o excesso de homozigotos foi significativo apenas para os locos Hc 40 e Hc 42 ( $p < 0,01$ ). A frequência de alelos nulos foi elevada (entre 24,5% e 58,7%) em todas as populações, o que indica que

TABELA 2: Caracterização dos *locos* SSR para as três populações de *Hymenaea courbaril* avaliadas na Amazônia sul-ocidental.

TABLE 2: Characterization of SSR loci for three populations of *Hymenaea courbaril* studied in southwestern Amazon.

Locos	N	k	$H_o$	$H_e$	f
Hc 33	159	6	0,987	0,651	-0,517
Hc 49	154	13	0,993	0,793	-0,253
Hc 12	137	20	0,890	0,860	-0,035
Hc 14	158	6	0,506	0,731	0,308
Hc 35	160	12	0,350	0,765	0,543
Hc 25	138	6	0,144	0,196	0,263
Hc 42	142	24	0,598	0,922	0,351
Hc 40	122	20	0,540	0,919	0,412

Em que:  $N$  = número de indivíduos genotipados;  $k$  = número total de alelos por *loco*;  $H_o$  = heterozigosidade observada;  $H_e$  = heterozigosidade esperada;  $f$  = índice de fixação.

os valores altos de  $f$  para os Locos podem não ser decorrentes unicamente da endogamia.

Analisando as populações separadamente, observa-se que o número médio de alelos por loco foi elevado e semelhante nas três populações, embora o número de árvores amostradas tenha sido diferente nos três locais. A riqueza alélica ( $R_s$ ), que é uma medida independente do tamanho amostral, foi menor na população de Porto Acre, o que indica uma menor diversidade genética nessa população, que também é confirmada pelas menores estimativas de  $A_e$  e  $H_e$  (Tabela 3). As heterozigosidades esperadas ( $H_e$ ) foram parecidas com as estimadas em outros trabalhos com a espécie realizados com marcadores microssatélites – entre 0,715 (LACERDA et al., 2008b) e 0,740 (KAGEYAMA et al., 2004).

Apesar de ampla variação entre os locos, o índice de fixação ( $f$ ) foi elevado significativo para Lábrea e Capixaba (Tabela 3). Valores elevados de  $f$  foram observados em outras populações da espécie estudadas na Amazônia oriental ( $f = 0,137$ ; LACERDA et al., 2008a) e na Floresta Atlântica ( $f = 0,207$ ; KAGEYAMA et al., 2004) indicando que, provavelmente, a endogamia seja comum na espécie. Embora Lacerda et al. (2008a) tenham constatado que a espécie é predominantemente de fecundação cruzada ( $t_m = 1,00$ ) e possivelmente autoincompatível, os autores observaram uma proporção elevada de cruzamentos correlacionados, o que pode aumentar a endogamia.

TABELA 3: Estimativas médias ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros de diversidade genética em três populações de *Hymenaea courbaril* na Amazônia sul-ocidental.

TABLE 3: Average estimates ( $\pm$  standard errors) of genetic diversity parameters in three *Hymenaea courbaril* populations in southwestern Amazon

Parâmetros	Populações		
	Lábrea	Capixaba	Porto Acre
$N$	31,6 $\pm$ 1,2	40,6 $\pm$ 2,0	74,0 $\pm$ 3,1
$A$	9,12 $\pm$ 1,47	9,10 $\pm$ 1,60	9,25 $\pm$ 2,36
$A_e$	6,43 $\pm$ 1,54	5,60 $\pm$ 1,19	5,10 $\pm$ 1,67
$R_s$	8,72 $\pm$ 1,47	8,46 $\pm$ 1,44	7,49 $\pm$ 1,92
$H_o$	0,624 $\pm$ 0,130	0,581 $\pm$ 0,120	0,654 $\pm$ 0,130
$H_e$	0,710 $\pm$ 0,090	0,728 $\pm$ 0,080	0,651 $\pm$ 0,080
$f(\text{IC}_{95\%})$	0,132 (-0,141 a 0,377)*	0,203 (-0,074 a 0,466)*	0,004 (-0,331 a 0,357) <sup>ns</sup>

Em que:  $N$  = Número médio de indivíduos para todos os *locos* analisados;  $A$  = número médio de alelos por *loco*;  $A_e$  = número efetivo de alelos por *loco*;  $R_s$  = riqueza alélica;  $H_o$  = heterozigosidade observada;  $H_e$  = heterozigosidade esperada;  $f$  = índice de fixação; ( $\text{IC}_{95\%}$ ) intervalo de confiança a 95% de probabilidade usando 10.000 reamostragens “bootstrap” sobre *locos*; \*  $p = 0,05$ ; <sup>ns</sup> = não significativo.

A população de Porto Acre, por outro lado, não apresentou endogamia embora tenha sido a população com menor diversidade genética. A densidade populacional dessa população foi muito superior às demais (0,25 ind.ha<sup>-1</sup>, enquanto que Lábrea e Capixaba tiveram 0,079 ind.ha<sup>-1</sup> e 0,044 ind.ha<sup>-1</sup>, respectivamente) com uma grande quantidade de indivíduos grandes (dados não publicados) e talvez a dinâmica populacional seja um fator que determinou essa diferença na diversidade genética e na endogamia. A densidade populacional e, principalmente, a distância entre indivíduos reprodutivos são fatores que afetam as taxas de fecundação cruzada (MURAWSKI e HAMRICK, 1991) e as distâncias de fluxo de pólen (DICK et al., 2008). Esses fatores podem ter contribuído para as diferenças em diversidade genética e endogamia entre as populações com densidades populacionais distintas. São necessários estudos para avaliar a sincronia do florescimento nessas popula-

ções e o sistema reprodutivo para que tenhamos conclusões mais precisas a respeito dessas diferenças.

#### Estimativas para estratégias de conservação

Devido ao valor elevado de  $f$  nas populações de Lábrea e Capixaba, o número efetivo ( $N_e$ ) de indivíduos dessas populações foi menor do que o amostrado (35,29% e 13,64%, respectivamente), o que não aconteceu com a população de Porto Acre.

Com base nos resultados obtidos de  $N_e$  e considerando que todas as fazendas estão inseridas numa paisagem de florestas contínuas estimou-se a Área Mínima Viável (AMV) para conservação *in situ* de cada população, utilizando-se 1000 como valor de referência do tamanho efetivo populacional (LYNCH, 1996). Como esperado, a  $AMV_{1000}$  para a população de Porto Acre foi muito inferior às demais (Tabela 4).

TABELA 4: Estimativas de parâmetros de conservação genética das populações de *Hymenaea courbaril* avaliadas na Amazônia sul-ocidental.

TABLE 4: Estimates of genetic conservation parameters of *Hymenaea courbaril* populations evaluated in southwestern Amazon.

Populações	$N$	$N_e$	$d$	AE	AMV <sub>1000</sub> (ha)	AMV <sub>500</sub> (ha)
Lábrea	34	22	0,079	428	19.562	9.781
Capixaba	44	38	0,044	1000	25.963	12.976
Porto Acre	82	92	0,250	328	3.565	1.782

Em que:  $N$  = Tamanho amostral;  $N_e$  = Tamanho Efetivo Populacional de acordo com Sebbenn e Seoane (2005);  $d$  = densidade populacional; AE = Área de cada população (talhão) em ha; AMV<sub>1000</sub> (ha) = área necessária para reter  $N_{e(\text{ref})} = 1000$  indivíduos; AMV<sub>500</sub> (ha) = área necessária para reter  $N_{e(\text{ref})} = 500$  indivíduos.

As diferenças observadas nas *AMVs* das três populações se devem especialmente à endogamia e à densidade de árvores. Embora a área necessária para conservação, considerando 1000 como limite de referência, tenha sido maior do que a área das três fazendas estudadas, os valores estimados estão perfeitamente dentro da realidade local. A estimativa de *AMV*, considerando 500 como o limite de referência (valor também considerado confiável por alguns autores), indica um tamanho de área mínima que está compatível com o limite das propriedades estudadas (Tabelas 1 e 4) exceto para Capixaba.

### Estrutura genética populacional

A divergência genética entre as três populações foi de  $G'_{ST} = 0,344$ . Como a presença de alelos nulos nos locos pode causar uma superestimação nas estimativas de divergência genética (CHAPUIS; ESTOUP, 2007), recalculou-se o  $G'_{ST}$  com apenas seis locos, ou seja, retirando-se os locos Hc 40 e Hc 42, que apresentaram alelos nulos para as três populações. Mesmo com a retirada desses locos, constatou-se valores parecidos para  $G'_{ST}$  (0,366). O valor para  $R_{ST}$  foi elevado e significativo (0,156; IC<sub>95%</sub> 0,139 – 0,198;  $p = 0$ ), mas inferior ao  $G'_{ST}$ . Assim como observado para o  $G'_{ST}$  com a retirada dos locos Hc 40 e Hc 42 em virtude dos alelos nulos, o novo valor de  $R_{ST}$  foi ligeiramente inferior (0,146; IC<sub>95%</sub> 0,127 – 0,193;  $p = 0$ ). Valores parecidos foram encontrados para populações de *Hymenaea stigonocarpa* ( $G'_{ST}$  0,446 e  $R_{ST} = 0,327$ ) localizadas no estado de São Paulo e distantes cerca de 266 km (MORENO, 2009). As estimativas elevadas de divergência genética são coerentes com o esperado para espécies arbóreas tropicais. Em um trabalho de revisão, Dick et al. (2008) avaliaram a divergência genética entre populações de espécies tropicais separadas por mais de 50 km e constataram valores elevados ( $F_{ST} = 0,177$ ;  $n = 42$  espécies), em decorrência principalmente dos altos níveis de endogamia comumente observados nessas espécies, que por sua vez é consequência das baixas densidades populacionais e da dependência de animais como polinizadores, fatores esses que podem restringir o fluxo gênico.

Devido à elevada divergência genética ( $G'_{ST} = 0,366$  e  $R_{ST} = 0,156$ ), foi possível classificar as populações como Unidades Independentes para o Manejo (UIM). Populações diferenciadas de uma mesma espécie não deveriam ser misturadas e requerem manejo genético separado (FRANKHAM et al.,

2008). As UIM permitem englobar as populações como reservatórios gênicos distintos, importantes para conservação (FRAZER; BERNATCHEZ, 2001). Dessa forma, assumem-se formas independentes para o manejo e conservação de cada população, sem interferir em aspectos evolutivos de caráter regional, como a adaptabilidade local (PALSBOLL et al., 2007).

### CONCLUSÕES

Este estudo mostrou que nos locais de estudo a espécie *Hymenaea courbaril* apresenta elevada diversidade genética, porém, com excesso de homozigotos nas populações de Lábrea e Capixaba. O número de alelos efetivos em todas as populações foi semelhante a outros estudos dessa mesma espécie.

As populações de Lábrea e Capixaba apresentaram endogamia como também verificado em outros estudos, no entanto, a população de Porto Acre não apresentou essa característica, talvez pela elevada densidade de indivíduos, o que não é comum para esta espécie.

A Área Mínima Viável para conservação da espécie foi compatível com a realidade do local de estudo, com uma ressalva para Capixaba, onde há necessidade de uma área muito maior em relação aos demais.

As populações foram classificadas como Unidades Independentes para o Manejo.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal do Acre e à Embrapa Acre pelo apoio logístico e de infraestrutura; e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado a SMMS.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOYLE, T. J. Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Eds.) **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO Publishing, 2000. cap.18, p.239-251.
- BROOKFIELD, J. F.Y. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. **Molecular Ecology**. v. 5, p. 453 – 455, 1996.
- CASTELLEN, M da S. **Avaliação do estado de**

- conservação de populações naturais de Jatobá (*Hymenaea courbaril*. L) por meio de análise de estrutura genética e correlação espacial.** 2005. 104f. Tese (doutorado em ecologia) - Escolar Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- CHAPUIS, M.-P.; ESTOUP, A. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n. 3, p. 621-631, 2007.
- CIAMPI, A. Y. et al. Isolation and characterization of microsatellite loco for *Hymenaea courbaril* and transferability to *Hymenaea stignocarpa*, two tropical species. **Journal compilation**, Jan. 2008.
- CRESTE, S. et al. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide. Gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.19, p. 299-306, 2001.
- DAILY, G. C. et al. Countryside biogeography: Use of human-dominated habitats by the avifauna of southern Costa Rica. **Ecological Applications**, v. 11, p.1-13, 2001.
- DICK, C.W. et al. Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 20-33. 2008
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue, **Focus**, Rockville, v. 12, n. 1, p. 13-15, Jan. 1987.
- EL MOUSADICK, A.; PETIT, E. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa*) (L) endemic to morocco. **Ther. Appl. Genetic**, v, 92, p. 832-839, 1996.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3. ed. Brasília: Embrapa – Cenargen, 1998. p. 220.
- FRANKLIN, I. R. Evolutionary changes in small population. In Soulé, M.E.; Wilcox, B. A. (Eds) **Conservation Biology** : an evolutionary – ecological perspective. Sunderland: Sinauer, 1980. p.135-149.
- FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity.** Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 299 p.
- FRANKHAM, R. et al. **Fundamentos de Genética da Conservação**, Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 280 p.
- FRAZER, D. J.; BERNATCHEZ, L. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. **Molecular Ecology**, Oxoford, n. 10, p, 2741-2752, 2001.
- GOODMAN, S. J. R<sub>ST</sub>Calc: a collection of computer programs for calculating estimatives of genetic differentiation from microsatellite data and determining their significance. **Molecular Ecology**, v. 6, n. 9, p. 881-885, 1997.
- GOUDET, J. F<sub>STAT</sub> Version 1.2: a computer program to calcule Fstatistics. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 6, 485-486, 1995.
- HEDRICK, P. W. A standardized genetic differentiation measure. **Evolution**, Lancaster, v. 59, n. 8, p. 1633-1638, 2005.
- IBAMA. **Instrução normativa, Lei nº 11.284/2006.** Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-florestais/wp-content/files/038-IN0002-100806.pdf>. Acesso em julho de 2010.
- JAIN, S. K. Genetics and demography of rare plants and patchly distributed colonizing species. In: LOESCHCKE V.; TOMIUK, J.; JAIN, S. K. (eds) **Conservation Genetics**. Basel: Birkhauser Verlag, 1994.
- KAGEYAMA, P. et al. Conservation of Mata Atlântica forest fragments in the State of São Paulo, Brazil. In: VINCETI, B.; AMARAL, W.; MEILLEUR, B. (Org.). **Challenges in managing forest genetic resource for livelihoods: examples from Argentina and Brazil.** Roma: IPGRI, p. 149-217. 2004.
- LACERDA, A. E. B. de. et al. Long-pollen Movement and Deviation of Random Mating in a Low-density Continuous Population of a Tropical Tree *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, v. 40, n. 4, p. 462-470, 2008a.
- LACERDA, A. E. B. de. et al. Effects of reduced impact logging on genetic diversity and spatial genetic structure of a *Hymenaea courbaril* population in the Brazilian Amazon Forest. **Forest Ecology and Management**, v. 255, p. 1034-1043, 2008b.
- LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data.** Version 1.0 (d 15). Free program distributed by the authors over the internet from de GDA homepage at [http:// alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002](http://alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002).
- MORENO, M. A. **Estrutura genética e diversidade clonal de Jatobá-do-Cerrado (*Hymenaea stignocarpa* Mart. ex Hayne) em duas populações no Cerrado do Estado de São Paulo.** 2009. 115 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- NAMKOONG, G. et al. **Criteria and indicators sustainable forest management: assessment and**



- monitoring of genetic variation.** Roma: FAO, 2002. 29 p.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics.** New York: Columbia University press, 1987. 512 p.
- OOSTERHOUT, C. V. et al. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 535-538, 2004.
- PASBOLL, P. J.; BÉRUBÉ, M.; ALLENDORF, F. W. Identification of management units using population genetic data. **Trends in Ecology e Evolution**, Amsterdam, v. 22, n.1, p. 11-16, 2007.
- PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação.** Londrina: Planta, 2001. 327 p.
- RAJORA, O. P. et al. Microsatellite DNA analysis of genetic effectis of havesting in old-growth eastern white pine (*Pines strobus*) in Ontario, Canada. **Molecular Ecology**, v. 9, p. 339-348, 2000.
- SEBBENN, A. M. Tamanho efetivo para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal**, v. 15, n. 2, p. 147-162, 2003.
- SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E .S. Estimativa do tamanho efetivo de endogamia por marcadores moleculares genéticos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2005.
- SLATKIN, M. A measure of population subdivision baseado n microssatellite allele frequências. **Genetics**, Austin, v. 130, p. 457-462, 1995.
- TELLES, M. P. C. **Diversidade genética e estrutura populacional de Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.) do sudoeste de Goiás.** 2000. 63 f. Tese (doutorado) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2000.
- TOLEDO, R. M de. **Modelagem espacial do fluxo gênico de sementes de Jatobá (*Hymenaea courbaril*), através de marcadores moleculares, na paisagem fragmentada do Pontal do Paranapanema, SP.** 2005. 73 f. Dissertação (mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, Piracicaba, 2005.
- YOUNG, A. G. et al. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 10, p. 413-418. 1996.
- YOUNG, A. G.; BOYLE, T. J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (eds). **Forest conservation genetics: Principles and practice.** Wallingford: CABI Publishing 2000. p. 123-134.