

## ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE ESPÉCIES ARBÓREAS NATIVAS DO CERRADO ENCONTRADAS EM TERRENOS SERPENTÍNICOS<sup>1</sup>

Marlei de Fátima Pereira<sup>2</sup>, Fabrício D'Ayala Valva<sup>3</sup>, Alexandre Siqueira Guedes Coelho<sup>3</sup>, Ananda Virginia Aguiar<sup>2</sup> e Maria Imaculada Zucchi<sup>4</sup>

### ABSTRACT

GENETIC STRUCTURE OF POPULATIONS OF ARBOREAL SPECIES NATIVE TO SERPENTINE SOILS OF THE CERRADO

This research was carried out to evaluate the effects of the adaptation to serpentine soils on the genetic structure of plant populations from the Cerrado region of Central Brazil, and establish a DNA extraction protocol for the studied species. Four populations of two species, *Hymenaea stignocarpa* (jatobá) and *Bowdichia virgiloides* (sucupira-preta), were studied. Two were collected on serpentine soils and the other two on heavy metal free soils. RAPD molecular marker data from collected individuals were used to evaluate the level of variability and the level of genetic divergence between populations of the same species. The genetic structure was studied using the AMOVA procedure via estimation of the components of genetic variance associated with regions (serpentine vs. non-serpentine). The results were not statistically significant, although some level of divergence between regions had been suggested by a UPGMA dendrogram based on the Jaccard similarity index. The estimate of genetic diversity between populations within group ( $\hat{\phi}_{ST}$ ) was statistically significant for "sucupira-preta" (0.1189) and "jatobá" (0.0692). These results suggest that strong selection pressures derived from the presence of toxic elements in serpentine soils did not promote the reproductive isolation necessary to allow the development of a detectable genetic divergence among populations from serpentine and non serpentine soils.

KEY WORDS: Serpentine soils, genetic drift, RAPD.

### INTRODUÇÃO

Solos serpentínicos são derivados da decomposição de rochas ultramáficas e ocorrem em várias partes do mundo. Esse tipo de solo é caracterizado por altas concentrações de ferro, magnésio, níquel, cromo e cobalto, bem como baixas concentrações de nutrientes importantes como cálcio, fósforo e potássio. Comunidades de plantas que se desenvolvem sobre substratos ultramáficos geralmente

### RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar os efeitos da adaptação a terrenos serpentínicos sobre a estrutura genética de populações de plantas da região dos Cerrados do Brasil Central, bem como estabelecer um protocolo para extração de DNA das espécies estudadas. Quatro populações de cada uma de duas espécies, *Hymenaea stignocarpa* Mart. (jatobá) e *Bowdichia virgiloides* Kunth. (sucupira-preta), foram estudadas, duas em terrenos serpentínicos e duas em solos livres de metais pesados. Foram usados dados de marcadores moleculares RAPD para avaliar o nível de variabilidade e de divergência genética entre populações da mesma espécie. A estrutura genética de cada espécie foi estudada usando o procedimento AMOVA, pela estimação dos componentes de variância genética associados a regiões (serpentínico vs não serpentínico). Os resultados foram estatisticamente não significativos, embora algum nível de divergência entre regiões tenha sido sugerido pelo dendrograma UPGMA baseado no índice de similaridade de Jaccard. A estimativa da divergência genética entre populações dentro de grupos ( $\hat{\phi}_{ST}$ ) foi significativa para sucupira-preta (0,1189) e jatobá (0,0692). Estes resultados sugerem que, apesar da forte pressão de seleção derivada da presença de elementos tóxicos nos solos serpentínicos, isso não foi suficiente para promover o isolamento reprodutivo necessário para permitir a divergência genética entre populações localizadas nos diferentes tipos de solos.

PALAVRAS-CHAVE: Solos serpentínicos, deriva genética, RAPD.

apresentam espécies endêmicas, podendo apresentar diferenças morfológicas e bioquímicas em relação às populações adjacentes. Na maioria das vezes, ocorre redução no desenvolvimento normal da planta, com sintomas de nanismo, atrofiamento dos órgãos e alterações no sistema reprodutivo. Várias dessas espécies têm sido caracterizadas como hiperacumuladoras de metais pesados e possuem capacidade para absorver e acumular, em seus tecidos,

1. Parte da dissertação de mestrado da primeira autora, apresentada à Universidade Federal de Goiás.

Trabalho recebido em jul./2003 e aceito para publicação em mai./2004 (registro nº 559).

2. Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP 74001-970. Goiânia, GO.

3. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, C. Postal 131, CEP 74001-970. Goiânia, GO.

4. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Caixa Postal 83, CEP 13400-970. Piracicaba, SP

concentrações superiores a 1.000 ppm de matéria seca (Brooks *et al.* 1977).

No Brasil, as formações mais expressivas de terrenos serpentínicos compreendem terras do Estado de Goiás, estendendo-se a mais de 1.000 km no sentido norte do país, em direção ao Estado do Pará e, ao sudeste, indo em direção ao sul de Minas Gerais. Nesta faixa, existem mais de 180 afloramentos de rochas ultramáficas, geralmente na forma de elevações e morros de tamanhos variados, podendo ser encontrados desde afloramentos pequenos (com dezenas de metros de extensão), a grandes afloramentos com vários quilômetros de extensão (Berbert 1970).

No Estado de Goiás, há quatro complexos importantes dessas rochas: Barro Alto, Tocantins, Canabrava e Natividade. São zonas de dimensões pequenas, porém, de grande importância econômica para o Estado, como é o caso de Barro Alto e Tocantins (Niquelândia), pelas grandes reservas de níquel (Ni) aí presentes. Estudos realizados sobre a flora destes locais levaram à descoberta das primeiras espécies hiperacumuladoras em terrenos serpentínicos, na América do Sul. Segundo Brooks *et al.* (1990), a espécie *Jatropha* sp. (Euphorbiaceae), encontrada em Macedo e Americano do Brasil, possui um látex que apresenta um dos maiores níveis de Ni já encontrados em uma planta (13.500 ppm na matéria seca).

As plantas, diferentemente dos animais, são fixas, vivem em ambientes heterogêneos e, portanto, apresentam uma maior plasticidade fenotípica na resposta às adversidades ambientais. Ao longo do tempo, forças evolutivas, como aquelas resultantes da presença de metais pesados no solo, promovem modificações na constituição genética das populações naturais, no sentido de se promover um aumento do valor adaptativo dessas populações. A seleção natural atua sobre essas mudanças favorecendo indivíduos que apresentam maior valor adaptativo. Modificações genéticas que não afetam o valor adaptativo podem, no entanto, ser acumuladas e virem a se fixar, diferenciando as populações geneticamente, sem que essa diferença se expresse fenotipicamente. Desse modo, se ocorre uma alteração nas condições ambientais ou genéticas que favoreçam organismos mutantes, eles passam a ser fenotipicamente superiores, mudando o caminho evolutivo dessas populações (Coelho & Valva 2001). Isso leva, ao longo do tempo, a um aumento na divergência genética em nível populacional, sendo que a especiação dificilmente poderá ocorrer, a não ser que um determinado nível crítico de isolamento reprodutivo possa ser

estabelecido, impedindo o fluxo gênico entre as populações.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da adaptação de plantas a uma condição de estresse, resultante da presença de metais tóxicos no solo, sobre a estrutura genética das populações, analisada a partir de marcadores moleculares RAPD, bem como estabelecer um protocolo para análise RAPD das espécies utilizadas no estudo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas duas espécies: *Hymenaea stagnocarpa* Mart. ex Hayne (jatobá) e *Bowdichia virgiloides* Kunth. (sucupira-preta), cuja variabilidade genética entre e dentro de populações foi estimada utilizando-se marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Para cada espécie, foram tomadas populações provenientes de quatro localidades do Estado de Goiás, sendo duas em terrenos serpentínicos: Morro Feio (população 1) e Cromínia (população 4), e duas localizadas em solos livres de metais pesados (populações 2 e 3).

Morro Feio (população 1) é uma elevação composta por rochas ultramáficas com cerca de 6 km<sup>2</sup>, situada a 30 km de Goiânia (próximo à BR 153), no município de Hidrolândia-GO, a 16°54'S, 49°14'W, que atinge 950 m de altitude. Cerca de 90% das rochas são serpentínicas, contendo altos teores de Fe, Mg, Ni, Cr e Co (Tabela 1). A vegetação é típica de espécies do Cerrado, com características de campo rupestre no platô (Brooks *et al.* 1990). Ao longo de cursos de água e pequenos vales, a vegetação é mais densa, típica de condições mais úmidas. Muitas das gramíneas, arbustos e pequenas árvores, apesar das condições mineralizadas típicas de solos serpentínicos, são muito similares, quanto às características morfológicas, à vegetação dos terrenos não serpentínicos adjacentes.

Cromínia (população 4) é uma elevação com rochas ultramáficas, semelhante a Morro Feio. Fica numa área rural no município de Cromínia-GO, situada a 100 km de Goiânia a 17° 19'S, 49°24'W e atinge 780m de altitude. O local é uma antiga área de mineração para extração de cromo (atualmente desativada), com cerca de 8 km<sup>2</sup> de extensão. A vegetação é típica de espécies do Cerrado, com características de campo rupestre em algumas partes (Brooks *et al.* 1990).

As localidades de solos não serpentínicos estão situadas à margem esquerda da BR 153 (sentido

Tabela 1. Concentração de elementos em solos ultramáficos amostrados no Estado de Goiás<sup>1</sup>

Localização	Al (%)	Fe (%)	Mg (%)	Ca (%)	Co (ppm)	Cr (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Ni (ppm)
Morro Feio	2,89	27,20	2,85	0,21	539	6869	78	3516	4379
Cromínia	1,40	17,32	6,55	0,37	367	4785	84	2972	4507
Americano do Brasil	2,42	24,48	3,16	0,87	468	2081	1724	3269	5164
Santo Antonio da Laguna (Barro Alto)	15,64	9,73	0,25	0,19	99	672	94	1228	497
Fazenda Buracão (Barro Alto)	1,97	21,22	3,79	0,46	430	2747	61	3580	10720
Macedo	1,46	29,80	1,12	0,46	561	2838	592	4924	10159
Niquelândia <sup>2</sup>	0,89	28,29	1,53	0,23	595	3892	2175	4438	10802
Niquelândia <sup>3</sup>	5,37	2,48	0,18	0,10	<30	66	19	254	27

<sup>1</sup> - Fonte: National Geographic Research, 6 (2): 208. <sup>2</sup> - solo serpentínico; <sup>3</sup> - solo não serpentínico.

Goiânia-Hidrolândia). A população 2 fica a 25 km de Goiânia a 16°54'S, 49°15'W, com 859 m de altitude. A população 3 fica a 15 km de Goiânia a 16°57'S, 49°14'W, com 867 m de altitude. A vegetação em ambos os locais é típica de espécies do Cerrado.

As coletas de campo foram realizadas nos meses de outubro e novembro de 2001. Em cada população foram coletadas folhas jovens de trinta indivíduos de cada uma das duas espécies, perfazendo um total de 240 indivíduos.

O protocolo de extração de DNA foi adaptado a partir daquele descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998), utilizando o método CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio). Para cada extração foram utilizados 700 µL de tampão de extração (CTAB 2% (p/v); NaCl 1,4 M; Tris-HCl 100 mM, pH 8,0; EDTA 20 mM), adicionando-se posteriormente 2 µL de β-mercapto-etanol para cada mL de tampão de extração. Os *pellets* obtidos nesse processo foram suspensos em 50 µL de tampão TE (10 mM Tris-HCl, pH 8; 0,1 mM EDTA) e armazenados em *freezer*.

Esse protocolo foi seguido sem alterações para sucupira-preta. Para o jatobá observou-se que folhas muito jovens apresentam muitos pelos, dificultando a extração. O ideal é usar folhas num segundo estágio de desenvolvimento. Assim, foram feitas as seguintes modificações no protocolo: após a extração descrita na literatura, a maioria dos *pellets* de jatobá se apresentaram ainda muito escuros, ou seja, com oxidação evidente. Foi realizada, então, uma lavagem adicional com sal, adicionado-se ao *pellet* 500 µL de uma solução 1 M NaCl (Ferreira & Grattapaglia 1998). Os tubos foram aquecidos em banho-maria a 65°C por quinze minutos e, em seguida, foram levados ao *freezer* por trinta minutos. Após esse período, os tubos foram centrifugados à velocidade de 13.000 rpm durante três minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e adicionou-se 2/3 do volume

(cerca de 350 µL) de isopropanol frio (-20°C). Os tubos foram levados novamente ao *freezer* à -20°C, por uma hora, e, após esse período, foram centrifugados para formar o *pellet*. Procedeu-se a duas lavagens com 1 mL de etanol 70%, e uma vez com 1 mL de etanol 95%, com cinco minutos de intervalo entre as lavagens. Os *pellets* foram ressuspensos em 50 µL de tampão TE e armazenados em *freezer*. A concentração de DNA das duas espécies foi estimada em gel de agarose 0,8 % pela comparação do DNA total com três concentrações do DNA lambda. As amostras utilizadas no RAPD, após a quantificação total, partiram de diluições da amostra total em água estéril de modo que contivesse 2,5 ng/µL de DNA.

Para a seleção de *primers* foram testados oitenta *primers* decanucleotídeos (Operon Technologies), utilizando-se as séries OPA, OPC, OPG, OPB, OPF e OPH. As reações de amplificação foram feitas em termociclador modelo PTC 100 da MJ. Cada reação consistiu de 25 µL contendo: 50 mM KCl; 10 mM Tris-HCl pH 8; 3 mM de MgCl; 0,2 mM de dNTP's; 15 ng de *primer*; água destilada e deionizada; 1U de Taq DNA polimerase; e, 15 ng de DNA genômico para a espécie jatobá e 7,25 ng para sucupira-preta. As amostras foram submetidas a um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por cinco minutos e submetidas a 48 ciclos de amplificação, de acordo com a seguinte programação: 1 min. a 92°C, 1 min. e 30 seg a 35°C, 1 min. e 30 seg a 72°C. Ao final de 48 ciclos, foi realizada uma extensão final de 6 min. a 72°C.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose horizontal 1,4%, utilizando-se o tampão de corrida TBE 1 X (Tris-borato 90 mM e EDTA 2 mM), a 80 V durante três a quatro horas. Após a separação, os géis foram corados com brometo de etídeo por quinze minutos e lavados em água por quinze minutos. Em seguida foram fotografados sob luz UV (Edas-Kodak). Como

marcador de peso molecular foi usado o *ladder* 250 bp (Gibco).

Os géis foram interpretados quanto à presença (1) e ausência (0) de bandas. Com base nesses resultados, construiu-se uma matriz de dados binários utilizada para avaliar o nível de polimorfismo referente às populações localizadas nos diferentes tipos de solos. As populações foram divididas em dois grupos: grupo 1, contendo as populações de terrenos serpentínicos (populações 1 e 4) e grupo 2, contendo as populações de terrenos não serpentínicos (populações 2 e 3). Com os dados de presença e ausência de bandas, calculou-se o coeficiente de similaridade de Jaccard ( $S_{ij}$ ) entre todos os indivíduos conforme a expressão:

$$S_{ij} = \frac{a}{a+b+c} \cdot 100$$

em que:

a: número de casos em que ocorre a presença da banda em ambos indivíduos, simultaneamente;

b: número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo  $i$ ;

c: número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo  $j$ .

Foi realizada a análise da variância de dados moleculares (AMOVA), conforme descrito por Excoffier *et al.* (1992) usando o software Arlequin (Schneider *et al.* 2000). A utilização do procedimento estatístico AMOVA permite a decomposição da variância genética total ( $\sigma_t^2$ ) em seus componentes, devido aos efeitos de populações ( $\sigma_p^2$ ) e de indivíduos dentro de populações ( $\sigma_i^2$ ). Assim, estima-se o parâmetro  $\phi_{ST}$  que é definido analogamente à estatística

$\theta$  de Cocherhan (1969), como:

$$\hat{\phi}_{ST} = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_i^2} = \frac{\hat{\sigma}_p^2}{\hat{\sigma}_t^2}$$

Essa estatística representa, portanto, uma medida do grau de estruturação da variabilidade genética em nível de populações, na medida em que é definida como sendo a proporção da variância genética total que se deve às diferenças entre populações.

Os dendrogramas resultantes da análise de agrupamento foram construídos a partir dos índices médios de similaridade de Jaccard, entre pares de populações, com o auxílio do *software* NTSYS (Rohlf 1989). Utilizou-se o critério de agrupamento UPGMA (unweighted pair group method arithmetical means). A consistência dos dendrogramas foi testada através de correlações cofenéticas, utilizando-se 10.000 permutações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos oitenta *primers* analisados, foram selecionados seis *primers* para sucupira-preta, obtendo-se um total de 52 locos, sendo 43 polimórficos (OPC-15, OPB-17, OPH-5,18 e OPG-13,14). Para jatobá, foram selecionados cinco *primers*, obtendo-se 46 locos, dos quais 40 foram polimórficos (OPA-19, OPG-10, OPH-18 e OPB-17,18). O número de fragmentos polimórficos por *primer* variou de onze (OPG-14 e OPH-5) a quatro (OPH-18) para sucupira-preta e de dez (OPH-18) a quatro (OPA-19) para jatobá. Na Figura 1, podem ser visualizados exemplos desses marcadores.

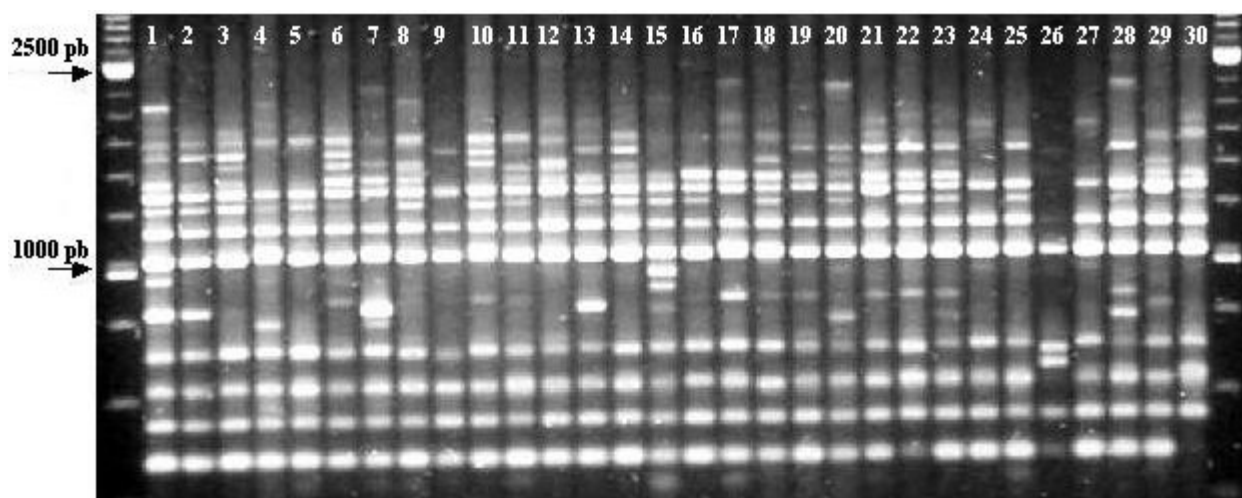


Figura 1. Perfil de um gel de RAPD utilizando o *primer* OPH-05, em trinta plantas da população 1 de sucupira-preta amostradas em áreas de solos serpentínicos, em Morro Feio, Estado de Goiás (nos extremos está o padrão de peso molecular - *ladder* 250 pb)

A Tabela 2 apresenta a porcentagem de bandas polimórficas para cada população e a porcentagem média de bandas polimórficas, considerando grupos de populações serpentínicas (1 e 4) e não serpentínicas (2 e 3). A menor porcentagem de locos polimórficos observada nas populações serpentínicas pode ter sido causada pela redução do tamanho efetivo ( $N_e$ ) no início da colonização dessas áreas, pelas plantas atuais. Um menor tamanho efetivo resulta em perda da variabilidade genética, pelo aumento da homozigose, e em consequente redução da heterozigosidade (Nei *et al.* 1975). Essa perda de heterozigosidade geralmente está associada a eventos aleatórios de colonização, devido a diversos fatores, como é o caso da pressão de seleção exercida por metais pesados no solo. Desse modo, o efeito fundador, seguido de deriva genética, tende a diminuir o nível de polimorfismo das espécies.

As Tabelas 3 e 4 apresentam os resultados obtidos pela análise de variância molecular (AMOVA) para sucupira-preta e jatobá, respectivamente. Foi verificado que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro de populações, nas duas espécies, e a menor parte se encontra entre populações. Em sucupira-preta observou-se um valor  $\hat{\phi}_{ST} = 0,1189$ , ou seja, uma variação de 11,89% entre populações. Em jatobá o valor desse índice foi  $\hat{\phi}_{ST} = 0,069$ , uma variação de 6,90%. Esses resultados sugerem a existência de um considerável fluxo gênico entre populações. De acordo com Valva & Coelho (1998), o fluxo gênico é o fator evolutivo responsável pela homogeneização das populações, restringindo os efeitos da deriva genética e da seleção e, portanto, a divergência entre as populações.

A maioria dos resultados obtidos em estudos realizados com plantas de cerrado tem demonstrado que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro das populações. Os dados obtidos neste trabalho podem ser comparados com os resultados de estruturação genética obtidos por Araújo (2001) em

estudos realizados com o pequi (*Caryocar brasiliense*), uma arbórea de ampla distribuição no Cerrado. A autora analisou 23 populações distribuídas na região sudeste e sudoeste do Estado de Goiás. Com 46 locos marcadores RAPD foi encontrado um valor  $\hat{\phi}_{ST} = 0,260$ . Zucchi (2003) estudando dez populações de cagaiteira do sudeste do Estado de Goiás, com 54 locos de RAPD, encontrou uma variação entre populações de 27,0% ( $\hat{\phi}_{ST} = 0,2703$ ). Telles (2000) obteve  $\hat{\theta}_p = 0,156$  (índice de divergência genética análogo a  $\hat{\phi}_{ST}$ ) usando marcadores isoenzimáticos para as mesmas populações. Já Trindade (2001), utilizando 35 marcadores RAPD, em três populações de cagaiteira da região nordeste do Estado de Goiás, verificou um valor  $\hat{\phi}_{ST} = 0,086$ . Bandeira (2002), estudando 14 populações de Araticum, verificou uma variação muito baixa entre populações: 0,01%.

Em relação à variabilidade genética entre os grupos, foi encontrado um valor não significativo para as duas espécies estudadas, 7,37% e 0,27% para sucupira-preta e jatobá, respectivamente. Apesar de não significativo, são valores relativamente altos, principalmente para sucupira-preta, não permitindo uma conclusão final acerca da não existência de variabilidade genética entre as populações, provenientes dos diferentes tipos de solos. Um fator que pode ter interferido para os resultados não significativos da AMOVA pode estar relacionado ao baixo número de graus de liberdade associado ao teste de significância das diferenças entre grupos. É possível que a utilização de um maior número de populações permitisse detectar diferenças significativas entre os dois tipos de solos. Tem que ser levado também em consideração que mecanismos de defesa e estratégias de adaptação, tais como plasticidade fenotípica (mudanças na morfologia), exclusão ou acúmulo de metais pesados dentro de vacúolos celulares, entre outros (Brooks *et al.* 1985, Lima e Cunha *et al.* 1997,

Tabela 2. Porcentagem de bandas polimórficas para as espécies sucupira-preta e jatobá nos diferentes tipos de solos.

Espécie	Solos serpentínicos				Solos não serpentínicos				% média nas populações	
	pop <sup>1</sup>	nbp <sup>2</sup>	nbt <sup>3</sup>	% bandas polimórficas	pop	nbp	nbt	% bandas polimórficas	1 e 4	2 e 3
Sucupira preta	1	37	52	71,2	2	40	52	76,9	69,2	78,8
	4	35	52	67,3	3	42	52	80,8		
Jatobá	1	38	46	83,6	2	39	46	84,8	79,5	85,8
	4	35	46	76,1	3	40	46	86,9		
Total	-	-	-	-	-	-	-	-	74,3	82,3

<sup>1</sup> - pop: população; <sup>2</sup> - nbp: número de bandas polimórficas; <sup>3</sup> - nbt: número de bandas total.

Tabela 3. Resultado da análise de variância molecular (AMOVA) de quatro populações de sucupira-preta, duas em terrenos serpentínicos (grupo 1) e duas em terrenos não serpentínicos (grupo 2)

Fonte de Variação	GL	SQ	Componentes de variação	% de variação	P-valor	Estatísticas $\phi$
Entre grupos	1	48,310	0,56758	7,37	<0,3431	$\hat{\phi}_{GT} = 0,07367$
Entre populações dentro de grupos	2	31,919	0,32439	4,53	<0,0001	$\hat{\phi}_{ST} = 0,1189$
Dentro de populações	110	739,21	6,72009	88,106	<0,0001	$1 - \hat{\phi}_{ST} = 0,88106$
Total	113	819,43	7,61206	-	-	-

Tabela 4. Resultado da análise de variância molecular (AMOVA) de quatro populações de jatobá, duas em terrenos serpentínicos (grupo 1) e duas em terrenos não serpentínicos (grupo 2)

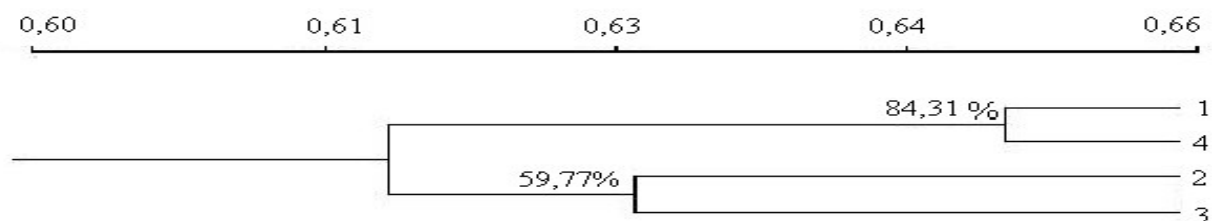
Fonte de Variação	GL	SQ	Componentes de variação	% de variação	P-valor	Estatísticas $\phi$
Entre grupos	1	23,800	0,02056	0,27	<0,3353	$\hat{\phi}_{GT} = 0,00267$
Entre populações dentro de grupos	2	45,133	0,51312	6,66	<0,0001	$\hat{\phi}_{ST} = 0,06925$
Dentro de populações	116	832,06	7,17299	93,08	<0,0001	$1 - \hat{\phi}_{ST} = 0,93075$
Total	119	901,00	7,69981	-	-	-

Krãmer *et al.* 2000), não levem a uma alteração da estrutura genética das populações estudadas, que possa ser detectada pelos marcadores RAPD.

Na Figura 2, encontram-se os dendrogramas gerados pelo critério de agrupamento UPGMA, através do programa NTSYS. Pode-se observar que houve um agrupamento entre as populações 1 e 4 de terrenos serpentínicos, indicando um distanciamento genético entre os dois grupos de plantas nos diferentes tipos de

solos. Esse resultado observado é condizente com o esperado em populações adaptadas a ambientes estressantes, como os solos serpentínicos (Robinson *et al.* 1996, Shallari *et al.* 1997, Briat & Lebrun 1998, Wolf 2001). A seleção natural para indivíduos de maior valor adaptativo a ambientes específicos, como é o presente caso, pode levar a extremos na divergência genética entre populações, resultando no isolamento reprodutivo e, por fim, na especiação (Nei *et al.* 1975).

Sucupira-preta



Jatobá

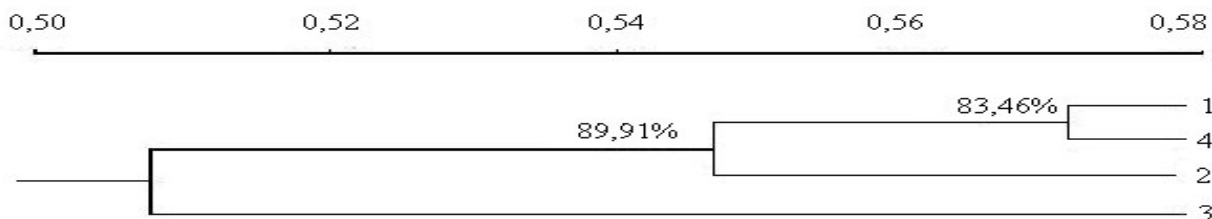


Figura 2. Padrão de similaridade genética entre quatro populações de sucupira-preta e de jatobá, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base nas médias dos índices de Jaccard (as populações 1 e 4 são de terrenos serpentínico e as 2 e 3, de terrenos não serpentínicos)

## CONCLUSÕES

1. Nas espécies estudadas (*Hymenaea stignocarpa* e *Bowdichia virgiloides*), a porcentagem de polimorfismo das populações em solos serpentínicos foi menor que a de solos não serpentínicos. Isso sugere que um possível efeito fundador, aliado à deriva genética, tenha diminuído o nível de polimorfismo das espécies.
2. O procedimento estatístico AMOVA não detectou diferença significativa entre os grupos de populações de terrenos serpentínicos e de terrenos não serpentínicos, sugerindo a existência de fluxo gênico entre as populações. A análise de agrupamento, entretanto, aponta para uma tendência de diferenciação entre as populações dos dois tipos de solos.
3. A tendência para divergência, detectada entre as populações, talvez seja consequência do fato de que, após ter colonizado as regiões ultramáficas, bem disjuntas entre si, as populações tenham seguido um caminho evolutivo diferente das populações de terrenos não serpentínicos, ligadas entre si pelo fluxo gênico.

## REFERÊNCIAS

- Araujo, T. C. C. 2001. Estrutura da variabilidade genética e estrutura populacional de *Caryocar brasiliense* Camb. no Estado de Goiás utilizando marcadores RAPD. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás. 87 p.
- Bandeira, L. F. 2002. Caracterização genética de populações naturais de araticum (*Annona crassiflora* Mart.). Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás. 78 p.
- Berbert, C. O. 1970. Geologia dos complexos básicos-ultrabásicos de Goiás. p. 41- 50. In Congresso Brasileiro de Geologia, XXIV. Sociedade Brasileira de Geologia, Rio de Janeiro. Anais.
- Briat, J-F. & M. Lebrun. 1998. Plant responses to metal toxicity. *Plant biology and pathology*, 322 (1): 43-54.
- Brooks, R. R., J. Lee, R. D. Reeves & T. Jaffré. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J. Geochem. Explor.*, 7 (1): 49-57.
- Brooks, R. R., F. Malaisse & A. Empain. 1985. The Heavy Metal Tolerant Flora of Soutcentral Africa. A multidisciplinary approach. Boston: A. A. Balkema.
- Brooks, R. R., R. D. Reeves, A. J. M. Baker, J. A. Rizzo & H. D. Ferreira. 1990. The Brazilian Serpentine Plant Expedition (Braspex). 1988. *National Geographic Research*, 6 (2): 205-219.
- Coelho, A. S. G. & F. D. Valva. 2001. O processo evolutivo e o melhoramento de plantas. In L. L. Nass, A. C. C. Valois, I. S. Melo & M. C. Valadares-Inglis (Eds.) *Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas*. Fundação MT, Rondonópolis. p. 57-78.
- Cockerham, C.C. 1969. Variance of gene frequencies. *Evolution*, 23 (1): 72-84.
- Excoffier, L., P. E. Smouses & J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA Haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131 (2): 479-491.
- Ferreira, M. E. & D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília, Embrapa-Cenargen. 220 p.
- Krämer, U., I. J. Pickering, R. C. Prince, I. Raskin, & D. E. Salt. 2000. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi species*. *Plant Physiology*, 122 (4): 1343-1353.
- Lima e Cunha, M. C., D. L. Saldanha, R. R. Brooks & C. E. Dunn. 1997. A preliminary survey of the vegetation and biogeochemistry of the mafic/ultramafic sequences of the Cerro Mantiqueira, Lavras do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. *Ofioliti*, 22 (2): 201-206.
- Nei, M., T. Muruyama & R. Chakraborty. 1975. The bottlenek effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29 (1): 1-10.
- Robinson, B. H., R. R. Brooks, J. H. Kirkman, P. E. H. Gregg & P. Gremigni. 1996. Plant-available elements in soils and their influence on the vegetation over ultramafic ('serpentine') rocks in New Zealand. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 26 (4): 457-468.
- Rohlf, F.J. NTSYS-Pc: 1989. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter publisher, New York.
- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. Arlequin ver. 2000. A software for population data analysis. Genetic and bimetry laboratory. University of Geneva, Switzerland.
- Shallari, S., C. Schwartz, A. Hasko & J. L. Morel. 1997. Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *The Science of the Total Environment*, 209 (2-3): 133-142.
- Telles, M. 2000. Diversidade genética e estrutura genética populacional de cagaiteira (*Eugenia dysenteria* DC.) do sudeste de Goiás. Dissertação de Mestrado. Escola

- de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás. 129 p.
- Trindade, M. G. 2001. Estrutura genética de populações naturais de cagaiteira (*Eugenia dysenteria* DC) do nordeste de Goiás. Goiânia, Dissertação de Mestrado. Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás. 99 p.
- Valva, F. A. & A. S. G. Coelho. 1998. Estrutura genética de populações vegetais: estratégias adaptativas do cerrado. In Congresso Nacional de Genética, 44. Goiânia, Goiás. Resumos.
- Wolf A. 2001. Conservation of endemic plants in serpentine landscapes. *Biological Conservation*, 100 (1): 35-44.
- Zucchi, M. I. 2003. Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenteria* DC utilizando marcadores RAPD e SSR. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo. 130 p.