

DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *DIPTERYX ALATA* LOCALIZADAS NOS MUNICÍPIOS DE BRASILÂNDIA/MS, INDIARA/GO E ITARUMÃ/GO ESTIMADA POR MARCADORES MICROSSATÉLITES

Christian Luis Ferreira Berti¹, Takeshi Kamada², Marcela Aparecida de Moraes³, Patricia Ferreira Alves³, Alexandre Marques da Silva⁴, Mario Luiz Teixeira de Moraes⁵, Mariana Pina da Silva Berti⁶

¹ Professor de biologia do IF Goiano - Campus Avançado Catalão e bolsista DCR/FAPEG/CNPq, Catalão-GO, Brasil.

² Professor do Departamento de Agronomia da Universidade de Rio Verde, Rio Verde-GO, Brasil.

³ Doutora em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, SP.

⁵ Geógrafo, Técnico Agropecuário do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia - Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, SP.

⁵ Prof. Titular do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, SP.

⁶ Professora de Agronomia da Universidade Estadual de Goiás- Campus de Ipameri, Ipameri-GO, Brasil.

RESUMO: O Baru (*Dipteryx alata* Vogel), pertence à família Fabaceae apresenta ampla distribuição no bioma Cerrado e um grande potencial para o uso na culinária local, ornamental e medicinal, sendo um importante recurso genético vegetal. Entretanto seu habitat está sob forte perturbação antrópica e devido a suas utilidades a espécie tem sido muito explorada. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética de três populações naturais de *Dipteryx alata* Vog, localizadas nos municípios de Brasilândia/MS, Indiará/GO e Itarumã/GO, utilizando marcadores moleculares microssatélites para fins de conservação da espécie. Folhas de acessos de baru de cada localidade foram coletadas e utilizadas para a extração das amostras de DNA genômico e genotipadas utilizando marcadores moleculares microssatélites específico para a espécie. As três populações de *Dipteryx alata* embora apresentem condições ambientais diferentes, apresentaram diversidade genética semelhante e forte endogamia. Para as pesquisas futuras, seria oportuno aumentar o número de amostras de cada população, coletar sementes e estudar a geração descendente, a fim de ter maior entendimento nos padrões do sistema de reprodução e fluxo gênico para assim, poder estimar e orientar uma coleta de sementes adequada visando à conservação genética *ex situ* e restauração ambiental.

Palavras-chave: Cerrado. Conservação genética *ex situ*. Endogamia.

GENETIC DIVERSITY OF NATURAL POPULATIONS OF *DIPTERYX ALATA* LOCATED IN THE MUNICIPALITIES OF BRASILÂNDIA / MS, INDIARA / GO AND ITARUMÃ / GO ESTIMATED BY MICROSSATELLITE MARKERS

ABSTRACT: Baru (*Dipteryx alata* Vogel), belongs to the Fabaceae family, presents a wide distribution in the Cerrado biome and great potential for use in local, ornamental and medicinal cuisine, being an important vegetal genetic resource. However its habitat is under strong anthropic disturbance and due to its uses the species has been very exploited. In this context, the present work had as objective to evaluate the genetic diversity of three natural populations of *Dipteryx alata* Vog located in the municipalities of Brasilândia/MS, Indiará/GO and Itarumã/GO, using microsatellite markers for conservation purposes of the species. Leaves of baru access from each locality were collected and used for the extraction of genomic DNA samples and genotyped using microsatellite markers specific for the species. The three populations of *Dipteryx alata*, although presenting different environmental conditions, presented similar genetic diversity, but presented lower levels of genetic diversity than are generally detected in other species and strong inbreeding. For future research, it would be opportune to increase the number of samples from each population, to collect seeds and to study the descendant generation, in order to have a better understanding of the breeding system and gene flow patterns in order to be able to estimate and guide an appropriate seed collection aiming at *ex situ* genetic conservation and environmental restoration.

Key words: Cerrado. *Ex situ* genetic conservation. Endogamy.

INTRODUÇÃO

O Cerrado possui grande diversidade de plantas, entre as quais muitas apresentam grandes possibilidades de exploração, cujo maior potencial é sua utilidade na alimentação. O barueiro (*Dipteryx alata* Vogel) pertencente à família Fabaceae faz parte do grupo de espécies nativas usadas pela população regional como fonte complementar de renda familiar, pela exploração extrativista de seu fruto, o baru.

É uma das espécies frutíferas nativas mais promissoras para cultivo está relacionado entre as 110 espécies nativas do Cerrado com maior potencial econômico para a população da região e entre as 10 mais promissoras para cultivo, devido ao seu potencial alimentício, madeireiro, medicinal, ornamental e forrageiro (ALMEIDA *et al.*, 1998; PEREIRA *et al.*, 2001). Apesar da sua irregularidade na produção de frutos, possui alta produtividade, facilidade no transporte e armazenamento dos frutos e a qualidade do produto. Como alimento, a amêndoa é rica em proteínas, lipídios insaturados, fibras e minerais essenciais. Além disso, é uma espécie-chave, pois amadurece na época da seca, alimentando várias espécies da fauna do Cerrado (SANO *et al.*, 2004; ALMEIDA *et al.*, 1998; RIBEIRO *et al.*, 2000; SANO *et al.*, 2010).

Uma espécie é formada por populações espalhadas por sua área de distribuição geográfica. Essas populações naturais são fonte de germoplasma para programas de melhoramento genético e também são as unidades sobre as quais incide o manejo para a

produção ou conservação dos recursos naturais (FALEIRO, 2007; FALEIRO, 2011; HOPKIN, 2004; ROBINSON, 1998).

No campo, as características morfológicas são utilizadas normalmente para descrever e discriminar variedades de plantas (ANTI, 2000), podendo servir para auxiliar a escolha de indivíduos com potencial para diversas finalidades. No entanto, essas características podem ser avaliadas de forma subjetiva e ainda sofrer influências ambientais positivas ou negativas, impossibilitando a detecção de polimorfismo de modo confiável entre espécies, variedades e indivíduos.

Com os avanços da biotecnologia, o advento dos marcadores moleculares possibilitou a discriminação genotípica de forma hábil, pois permite o estudo da variação genética em nível de DNA (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores moleculares podem ser utilizados como ferramenta para estudos de diversidade genética entre indivíduos, dentro e entre populações ou espécies relacionadas.

Os marcadores microssatélites são ferramenta importante para se estimar parâmetros genéticos de subpopulações mantidas em coleções de germoplasma. Esse tipo de marcador molecular é amplamente utilizado em estudos de diversidade genética neutra e dos padrões de fluxo gênico e parentesco, além de fornecer conhecimento sobre o sistema reprodutivo de uma espécie (GOLDSTEIN; SCHLOTTER, 1999; SCHLOTTERER, 2000).

Mesmo com sua extrema importância econômica e ecológica, grandes populações desta espécie foram destruídas e continuam sendo perdidas em ecossistemas nativos (CARVALHO, 2003; POTT; POTT, 2003; SANO *et al.*, 2004). Assim estudos de pré-melhoramento e conservação da variabilidade genética tornam-se necessários, a fim de garantir o uso adequado desse recurso genético, bem como auxiliar no controle da estabilidade genética na coleção de germoplasma para subsidiar estratégias eficientes de manutenção e manejo (FALEIRO, 2007).

Dentro do contexto apresentado, objetivou-se neste trabalho estimar a diversidade genética de três populações naturais de *Dipteryx alata* Vog, localizadas nos municípios de Brasilândia/MS, Indiará/GO e Itarumã/GO, por meio de marcadores moleculares microssatélites.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O estudo foi realizado a partir de três populações naturais de *Dipteryx alata* Vog, localizadas nos municípios de Brasilândia/MS, Indiará/GO e Itarumã/GO (Tabela 1 e 2).

As características dos municípios em que se localizam as populações de *D. alata* evidenciam diferenças quanto à altitude, vegetação, clima, solo, relevo e pluviosidade, o que é interessante quando se busca quantificar a diversidade genética de uma espécie arbórea.

Tabela 1. Coordenadas geográficas das três populações naturais de baru utilizadas neste estudo.

Matriz	Local	Estado	Latitude	Longitude	Altitude
1	Indiara	GO	8096705,81	541179,20	585,2
2	Indiara	GO	8096653,79	541069,81	589,1
3	Indiara	GO	8096545,48	541291,10	595,8
4	Indiara	GO	8096623,01	541400,54	599,8
5	Indiara	GO	8096675,62	541521,73	600,0
6	Indiara	GO	8096783,38	541421,53	599,6
7	Indiara	GO	8096786,76	541421,54	599,6
8	Indiara	GO	8096870,00	541288,80	599,4
9	Indiara	GO	8096975,67	541306,73	601,1
10	Indiara	GO	8097080,21	541126,78	615,7
11	Indiara	GO	8092041,83	602180,51	614,7
12	Indiara	GO	8091991,74	602056,23	616,2
13	Indiara	GO	8092355,57	602746,13	611,3
14	Indiara	GO	8092434,83	601642,03	610,2
15	Indiara	GO	8092450,04	602539,88	611,4
1	Brasilândia	MS	7650897,22	393549,79	355,3
2	Brasilândia	MS	7650971,21	393438,06	360,5
3	Brasilândia	MS	7650938,05	393342,08	363,5
5	Brasilândia	MS	7650874,20	393926,14	359,7
6	Brasilândia	MS	7651188,05	393555,90	373,1
13	Brasilândia	MS	7651727,69	394138,25	356,9
15	Brasilândia	MS	7651662,60	394087,72	360,3
18	Brasilândia	MS	7651509,22	394317,44	365,3
19	Brasilândia	MS	7651552,66	394427,69	366,8
20	Brasilândia	MS	7651656,88	394487,94	367,3
21	Brasilândia	MS	7651645,16	394679,08	366,9
26	Brasilândia	MS	7651480,54	394866,84	357,5
27	Brasilândia	MS	7651451,23	394940,19	354,6
28	Brasilândia	MS	7651524,10	394979,99	353,2
30	Brasilândia	MS	7651595,61	394944,87	359,2
31	Brasilândia	MS	7651575,25	394843,19	362,4
32	Brasilândia	MS	7651622,34	393783,58	368,2
33	Brasilândia	MS	7651602,88	393855,11	366,7
36	Brasilândia	MS	7651684,04	393892,78	359,7
37	Brasilândia	MS	7651721,10	393958,75	357,7
1	Itarumã	GO	7927494,86	473619,00	491,3
9	Itarumã	GO	7915320,98	462217,38	502,9
10	Itarumã	GO	7915393,32	462203,64	500,7
11	Itarumã	GO	7915474,34	462164,92	497,7
14	Itarumã	GO	7915495,02	462267,80	497,0
15	Itarumã	GO	7915446,58	462333,00	499,3
16	Itarumã	GO	7915973,99	462638,82	497,0
17	Itarumã	GO	7916009,06	462472,93	494,3
18	Itarumã	GO	7916054,46	462376,76	491,6

19	Itarumã	GO	7915310,85	462407,55	505,2
20	Itarumã	GO	7927006,50	475020,88	484,9
21	Itarumã	GO	7926788,59	474484,75	488,3
22	Itarumã	GO	7926622,82	474631,49	496,9
25	Itarumã	GO	7927728,05	473738,21	476,5
27	Itarumã	GO	7927831,50	473264,87	491,0
28	Itarumã	GO	7915032,02	462241,77	510,7
29	Itarumã	GO	7914923,97	462212,81	511,5
31	Itarumã	GO	7915105,53	462316,10	513,8

Para as análises moleculares julgou-se oportuno coletar amostras foliares de mais árvores de cada população a fim de garantir o sucesso da extração do DNA, uma vez que por se tratar de uma espécie arbórea nativa o processo de extração de DNA genômico é dificultado por apresentar vários produtos inespecíficos, por esta razão, a Tabela 2 ilustra um número de amostras diferenciado da Tabela 1.

Tabela 2. Descrição das amostragens das populações de *Dipteryx alata* e suas localizações.

População	Sigla	Árvores matrizes	Localização
Brasilândia/MS	POP-BR	20	Interior de pastagens contornada por plantações de eucalipto
Indiara/GO	POP-IND	21	Fragmento ao lado da rodovia e em volta de pastagens
Itarumã/GO	POP-ITA	22	Interior de pastagens

Métodos - Extração de DNA

Para o estudo da variabilidade genética foram coletadas 63 amostras de folhas de matrizes de baru nas três populações. Foram utilizados tecidos foliares jovens coletados, identificados, acondicionados em sacos plásticos e mantidos em gelo até a chegada ao Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura (LGPS), está localizado no Campus II da FEIS/UNESP, em Ilha Solteira, SP. No laboratório, as folhas foram acondicionadas em câmara fria até o momento da extração.

Para extração de DNA, cerca de 150 mg de folhas jovens foram picotadas e colocadas em microtubos de 2,0 mL e maceradas em nitrogênio líquido com auxílio de pistilo, adicionando-se, em seguida, 800 µL de tampão de extração, de acordo com método CTAB 2% (4,5% de CTAB; EDTA – 0,5M; pH 8,0; Tris-HCl – 1M; pH 8,0; NaCl 5M, 1% de PVP-40, 0,2% β-mercaptoetanol) proposto por Doyle e Doyle (1990) com modificações.

As amostras foram incubadas em banho-maria a 65°C por cerca 60 minutos, invertendo os microtubos a cada 10 minutos. Após a incubação foi realizada a desproteinização adicionando 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) em cada amostra, em seguida foram homogeneizadas no vortex. As amostras foram centrifugadas por

10 minutos à 10.000 rpm. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um microtubo limpo, sendo adicionado 50 µL CTAB 7% em continuação da desproteção.

Para precipitação do DNA, foi adicionado ao sobrenadante 500 µL de isopropanol gelado, incubando-se por 2 horas em freezer a -20°C e centrifugado. Para formação do *pellet*, os tubos foram, então, submetidos a uma centrifugação por 10 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi retirado, com cuidado, invertendo-se o microtubo em um béquer. Adicionou-se ao *pellet* precipitado 500 µL de etanol 70% gelado, centrifugando por cinco minutos a 12.000 rpm, descartando novamente o sobrenadante (etanol). Este procedimento repetido mais uma vez e em seguida foi feita uma nova purificação utilizando o etanol absoluto gelado. Posteriormente os ácidos nucleicos foram ressuspensos com 50 µL de TE (100 mM Tris / 10 mM EDTA) contendo 6 µL de RNase e incubando a 37°C em banho maria por 30 minutos e acondicionados em freezer à -20°C.

Para verificação da qualidade do DNA, utilizou-se um minigel de agarose 0,8%, corado com GEL Red® em tampão TBE 1X (Tris-Boro-EDTA) por eletroforese em cuba horizontal. A quantidade do DNA foi visualizada e fotografada sob luz ultravioleta, em transiluminador *Loccus Biotecnologia*®, modelo L-PIX-HE, esse processo foi utilizado como indicador da integridade do DNA extraído. Para o processo de avaliação da pureza foi quantificado em aparelho *Nanodrop* a 260nm, com 2 µL de DNA puro.

Tabela 3. Sequências dos *primers* SSR descritos por Soares *et al.* (2012) para *Dipteryx alata*.

Loco	Sequência do primer (5´- 3´)	Motivo de repetição	Temperatura de anelamento (°C)
DaE06	F: TGCAGCATAAAAATTGCGAA R: TTACCCAAAGCCTCAAGAA	(AAAT) ₄	60
DaE12	F: CCTTCTATGCGCTCTCTGCT R: TACTTCAACGCCAGCTTCCT	(ATTTTT) ₃	64
DaE20	F: AATAGCAGGGCACCATTAC R: ACGTTTTTGCCGACATTCAT	(AG) ₈	60*
DaE34	F: ATCCTCTGCGTGCATTCTTT R: CGCTTGCTGCTATTCCTTC	(GA) ₅	64*
DaE41	F: GCCTCCTCCTCCGGTATCTA R: CAGCAGTGGGAGTGTCAGAA	(CA) ₅	66*
DaE67	F: CAGCGGACCTGAGAGAAGG R: AATTGAGGCTGATGTTTGGG	(GATACA) ₄	66*
DaE46	F: GCCTATGCGTCCTTCAGATT R: TTTTGCCACATGCTTCTTTG	(TTA) ₅	56

(*) Para a amplificação do DNA de *Dipteryx alata* os *primers* DaE20, DaE34, DaE41 e DaE67 ocorreram mudanças nas temperaturas de anelamento sendo 56°, 60°, 60° e 60°, respectivamente.

Fonte: Soares *et al.* (2012).

A caracterização do DNA genômico foi feita com base nos locos microssatélites que foram amplificados por PCR em um volume final de 11,5 µL, usando GoTaq® Colorless Master Mix, contendo 6,0 µL de GoTaq® Colorless Master Mix (2x), 1,5 µM de *primer* (F e R), 2,0 µL de água *nuclease free* e 10 ng/ µL de DNA. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador marca *Eppendorf*, assim o programa de amplificação para todos os iniciadores constituiu-se de desnaturação inicial a 94°C durante 5 min., seguido de 30 ciclos de amplificação (94°C[1min.], 1 min. de anelamento a uma temperatura específica de cada primer, 72°C de alongamento da cadeia por 1 min.) e um alongamento final a 72°C por 12 min. As amplificações foram realizadas usando um conjunto de *primers* (Tabela 3 e 4).

Para maior precisão de genotipagens, foi utilizado um fragmentador automático, *AdvanCE™ FS96 System*. Este equipamento utiliza um sistema de eletroforese capilar e não necessita de *primers* fluorescentes marcados. É um equipamento com a maior sensibilidade, rapidez na análise e possui alta resolução de separação dos fragmentos. Para realização da genotipagem, as PCR foram diluídas em TE (2,0 µL da PCR + 20 µL de TE), com duração de 90 minutos para as 60 amostras.

As leituras dos eletroferogramas feitas pelo fragmentador automático foram analisadas no programa *PROSize®2.0*.

Tabela 4. Sequências dos *primers* SSR citado por Tarazi *et al.* (2010) para *Dipteryx alata*.

Loco	Sequência do primer (5´- 3´)	Temperatura de anelamento (°C)
Do06	F: AGCGGTGAAAAGACCATAGC R: CCAACGATAAGATTCCITCCA	54
Do08	F: AGATCAGCGGACAAAGGTCT R: GTAATGTTGIGCCACTCTIG	58
Do17	F: GTTGCTGTCGGTCTCCATA R: CCAAGGACGCTGTGCTCTAC	56
Do24	F: AACGCAGGATCTAGCCAAAA R: CTTCTCGCTGTGIGCACTC	58
Do25	F: AAATGCAAAACGGAAGAGGA R: CCCCIGAAGGAGACTTCGAT	56
Do35	F: CAACCAAAGCAAACAAAGCA R: GCTGAGAAAGGGGAATGCAG	58,5

Fonte: Tarazi *et al.* (2010).

Diversidade genética

A diversidade genética interpopulacional foi caracterizada pela riqueza alélica (\hat{R}), calculada por rarefação, heterozigosidade observada (\hat{H}_o) e heterozigosidade esperada segundo as proporções do equilíbrio de Hardy–Weinberg (\hat{H}_e). A presença de endogamia foi estimada usando o índice de fixação (\hat{F}) e sua significância estatística foi estimada

utilizando permutação de alelos entre indivíduos. Os índices de diversidade genética, o índice de fixação e permutação foi calculado usando o programa FSTAT (GOUDET, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo os 12 locos microssatélites analisados foram polimórficos (Tabela 5). É possível observar que os valores médios dos parâmetros da diversidade genética entre as três populações são semelhantes. Em termos médios do número total de alelos ($k = 61$) pode ser considerado baixo em relação à média encontrada nas 13 espécies nativas arbóreas ($k = 87$) apresentadas na Tabela 6. Esta média é baixa devido ao número de indivíduos amostrados nesses trabalhos ser muito maior que os do presente estudo, sendo esperado que o valor de k fosse maior. Tanto a heterozigosidade observada (\hat{H}_o) como a heterozigosidade esperada (H_e) apresentaram comportamento semelhante ao k , sendo a \hat{H}_o apenas superior à espécie *Theobroma grandiflorum* e a H_e sendo superior a *Araucaria angustifolia*, *Hymenaea stignocarpa*, *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. O interessante foi que essas 13 espécies estudadas estão em áreas de fragmento ou pastagens sujeitas à perturbação antrópica como as três populações do presente estudo, assim, era esperado que os níveis de diversidade fossem semelhantes. Moraes *et al.* (2007) inferem que alto estado de fragmentação e o pequeno tamanho das populações pode ser a causa da baixa diversidade genética, mas para responder esta questão seria necessário pelo menos comparar os resultados com outros obtidos a partir de populações grandes e contínuas da mesma espécie. Entretanto, na literatura essas informações sobre a *Dipteryx alata* são limitadas.

As três populações de *Dipteryx alata* estão em condições diferenciadas no ambiente, a POP-BR está localizada no interior de pastagens e contornada por plantações de eucalipto, a POP-IND está em um fragmento ao lado da rodovia e em volta de pastagens e a POP-ITA está na pastagem, ou seja, a POP-ITA está menos propensa a visita dos polinizadores (abelhas) do que a POP-IND. Oliveira e Sigrist (2008) observaram que a *Dipteryx alata* apresenta auto-incompatibilidade, ou seja, a espécie não tolera autofecundação. Isso mostra que a diversidade genética da espécie deveria ser muito maior que os resultados apresentados no presente trabalho, pois as populações deveriam estar em intenso fluxo gênico entre os indivíduos, mas não foi o caso, ou seja, nas três áreas estudadas a densidade do polinizador (abelha) é muito baixa, e isso está interferindo no sistema de reprodução, fluxo gênico e diversidade genética.

Um alto e significativo índice de fixação (\hat{F}) foi detectado nas árvores adultas das três populações de *Dipteryx alata*, sugerindo desvios das proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Altos índices de fixação podem ocorrer devido à presença de alelos nulos, autofecundação, cruzamentos endogâmicos e devido ao efeito Wahlund, causado pela presença de estruturação das populações. No presente caso, deve-se descartar a presença de alelos nulos, pois os *primers* foram desenvolvidos especificamente para a espécie e a

autofecundação, pois a espécie apresenta auto-incompatibilidade. A endogamia está presente na maior parte das populações naturais que nada mais é do que uma consequência das ações antrópicas, como pode ser observado na Tabela 6.

Os estudos utilizando marcadores moleculares microssatélites tem se mostrado vantajosos, atingindo seus propósitos de fornecer subsídios para programas de conservação e manejo, permitindo o uso sustentável de recursos (VIANNA, 2015). Nesse contexto, para as pesquisas futuras, seria oportuno aumentar o número de amostras de cada população, coletar sementes e estudar a geração descendente, a fim de ter maior entendimento nos padrões do sistema de reprodução e fluxo gênico para assim, poder estimar e orientar uma coleta de sementes adequada visando à conservação genética *ex situ* e restauração ambiental.

Tabela 5. Diversidade genética, índice de fixação (\hat{F}) em locos microssatélites de árvores adultas de *Dipteryx alata*. n é o tamanho amostral; k é o número total de alelos; \hat{R} é a riqueza alélica para os indivíduos genotipados nos 12 locos microssatélites; \hat{H}_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada.

Loco	k	\hat{R}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{F}	k	\hat{R}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{F}	k	\hat{R}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{F}
	Brasilândia (n= 20)					Itarumã (n = 21)					Indiara (n = 22)				
DaE12	4,0	4,0	0,100	0,603	0,834*	3,0	3,0	0,000	0,329	1,000*	3,0	3,0	0,00	0,667	1,000*
DaE20	8,0	8,0	0,499	0,709	0,295*	5,0	5,0	0,455	0,723	0,371*	8,0	7,9	0,285	0,825	0,654*
DaE46	4,0	4,0	0,050	0,571	0,912*	3,0	3,0	0,045	0,361	0,874*	3,0	3,0	0,047	0,676	0,930*
DaE67	4,0	4,0	0,899	0,646	-0,393	3,0	3,0	0,772	0,619	-0,248	6,0	5,9	0,809	0,713	-0,135
DaE34	3,0	3,0	0,200	0,422	0,526*	4,0	3,9	0,272	0,453	0,399*	5,0	4,9	0,476	0,711	0,330*
DaE41	4,0	4,0	0,500	0,562	0,110*	4,0	3,9	0,227	0,563	0,596*	6,0	5,9	0,381	0,706	0,460*
DaE63	3,0	3,0	0,049	0,553	0,910*	8,0	7,9	0,227	0,847	0,732*	5,0	4,9	0,143	0,626	0,772*
DaE06	3,0	3,0	0,299	0,408	0,265*	3,0	3,0	0,000	0,455	1,000*	2,0	2,0	0,00	0,324	1,000*
DaE08	9,0	9,0	0,499	0,868	0,424*	7,0	6,9	0,273	0,749	0,636*	12,0	11,7	0,714	0,871	0,180*
DaE35	7,0	7,0	0,249	0,733	0,659*	9,0	8,7	0,500	0,790	0,367*	9,0	8,8	0,476	0,756	0,370*
DaE24	7,0	7,0	0,499	0,797	0,373*	7,0	6,9	0,500	0,855	0,415*	5,0	5,0	0,667	0,767	0,130*
DaE25	4,0	4,0	0,650	0,757	0,141*	5,0	4,9	0,682	0,673	-0,013	5,0	4,9	0,380	0,527	0,278*
Média	5,0	5,0	0,375	0,636	0,421*	5,08	5,03	0,329	0,618	0,511*	5,7	5,7	0,365	0,681	0,497*
DP	2,13	2,13	0,262	0,143	0,381*	2,15	2,09	0,255	0,185	0,381*	2,80	2,7	0,279	0,144	0,372*
Total	60	-	-	-	-	61	-	-	-	-	69	-	-	-	-

* $P < 0.05$. DP é o desvio padrão.

Tabela 6. Parâmetros genéticos estimados para espécies arbóreas tropicais com base em locos microssatélites: n é o tamanho amostral; k é o número total de alelos; \hat{H}_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada e \hat{F} é o índice de fixação.

Espécies	n	k	H_o	H_e	F	Referências
<i>Araucaria angustifolia</i>	108	62	0,551	0,585	0,058	Bittencourt e Sebbenn (2008)
<i>Bagassa guianensis</i>	488	71	0,626	0,693	0,097	Arruda <i>et al.</i> (2015)
<i>Cariniana legalis</i>	65	100	0,810	0,860	0,060	Tambarussi <i>et al.</i> (2016)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	112	186	0,757	0,893	0,152	Sebbenn <i>et al.</i> (2011)
<i>Dinizia excelsa</i>	553	91	0,651	0,728	-	Dick <i>et al.</i> (2003)
<i>Hymenaea courbaril</i>	64	79	0,607	0,813	0,259	Feres <i>et al.</i> (2009)
<i>Hymenaea stignocarpa</i>	42	70	0,367	0,623	0,411	Moraes <i>et al.</i> (2007)
<i>Manilkara huberi</i>	289	124	0,706	0,856	0,175	Azevedo <i>et al.</i> (2007)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	467	60	0,691	0,686	-0,018	Gaino <i>et al.</i> (2010)
<i>Symphonia globulifera</i>	161	144	0,783	0,907	0,137	Carneiro <i>et al.</i> (2009)
<i>Tabebuia roseo-alba</i>	22	52	0,635	0,761	0,167	Feres <i>et al.</i> (2012)
<i>Theobroma cacao</i>	127	26	0,496	0,477	-0,041	Silva <i>et al.</i> (2011)
<i>Theobroma grandiflorum</i>	40	71	0,355	0,419	0,192	Alves <i>et al.</i> (2007)
Média		87	0,618	0,715		

CONCLUSÃO

As três populações de *Dipteryx alata* apresentaram diversidade genética semelhante, porém moderada e forte endogamia. A presença dessa variabilidade genética é fundamental para a sobrevivência das populações ao longo das gerações, ressaltando a importância de estudos genéticos mais aprofundados para melhor entendimento do comportamento reprodutivo da espécie para poder, assim, estabelecer estratégias adequadas de conservação *in situ* e *ex situ* da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.
- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Tree Genetics & Genomes**, St. Louis, v. 3, n. 4, p.289-298, 2007.
- ANTI, A. B. Caracterização de germoplasma de soja e de feijão através de eletroforese de isoenzimas da semente. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 2, p.139-42, 2000.
- ARRUDA, C. C. B.; SILVA, M. B.; SEBBENN, A. M.; KANASHIRO, M.; LEMES, M. R.; GRIBEL, R. Mating system and genetic diversity of progenies before and after logging:

a case study of *Bagassa guianensis* (Moraceae), a low-density dioecious tree of the Amazonian forest. **Tree Genetics & Genomes**, St. Louis, v. 11, n. 3, p.2-9, 2015.

AZEVEDO, V. C. R.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A. Y.; GRATTAPAGLIA, D. Genetic Structure and Mating System of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a Heavily Logged Amazonian Timber Species. **Journal of Heredity**, Washington, v. 98, n. 7, p.646-654, 2007.

BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TWOGENER analysis. **Conservation Genetics**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p.855-868, 2008.

CARNEIRO, F. S.; DEGEN, B.; KANASHIRO, M.; LACERDA, A. E. B. L.; SEBBENN, A. M. High levels of pollen dispersal detected through paternity analysis from a continuous *Symphonia globulifera* population in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 258, n. 7, p.1260-1266, 2009.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 2003. 1039 p.

DICK, C. W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, New York, v. 12, n. 3, p.753-764, 2003.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, Maryland, v. 12, n. 1, p.13-15, 1990.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FALEIRO, F. G. Aplicações de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar em programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético vegetal. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B.; (Org.). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. cap. 3, p. 55-118.

FERES, J. M.; GUIDUGLI, M. C.; MESTRINER, M. A.; SEBBENN, A. M.; CIAMPI, A. Y.; ALZATE-MARIN, A. L. Microsatellite diversity and effective population size in a germplasm bank of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Leguminosae), an endangered tropical tree: recommendations for conservation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 56, n. 6, p. 797–807, 2009.

FERES, J. M.; SEBBENN, A. M.; GUIDUGLI, M. C.; MESTRINER, M. A.; MORAES, M. L. T.; ALZATE-MARIN, A. L. Mating system parameters at hierarchical levels of fruits, individuals and populations in the Brazilian insect-pollinated tropical tree, *Tabebuia roseoalba* (Bignoniaceae). **Conservation Genetics**, Arlington, v. 13, n. 2, p.393-405, 2012.

- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa/Cenargen, 1998. 220 p.
- GAINO, A. P. S. C.; SILVA, A. M.; MORAES, M. A.; ALVES, P. F.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, Arlington, v. 11, n. 5. p.1631-1643, 2010.
- GOUDET, J. Fstat. (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate F-statistics. **Journal of Heredity**, Edinburg, v. 86, n. 6, p.485-486, 1995.
- GOLDSTEIN, D. B.; SCHLOTTER, C. **Microsatellites: Evolution and Applications**. New York: Oxford University Press, 1999. 343 p.
- HOPKIN, M. Brazilian savannah 'will disappear by 2030'. **Nature**, 2004. Disponível em:<http://nature.com/News/2004/040720/full/news040719-6.html>. Acesso em: 20 fev 2017.
- MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 35, n. 74, p.75-86, 2007.
- OLIVEIRA, M. I. B.; SIGRIST, M. R. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p.195-207, 2008.
- PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; JUNQUEIRA, N. T. V. Propagação e domesticação de plantas nativas do cerrado com potencial econômico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, 2001. Suplemento CD-ROM.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Espécies de fragmentos florestais em Mato Grosso do Sul**. In: COSTA, R. B. (ed.). Fragmentação Florestal e Alternativas de Desenvolvimento Rural na Região Centro-Oeste. Campo Grande: UCDB. 2003. cap. 2 , p.26-52.
- RIBEIRO, J. F.; SANO, S. M.; BRITO, M. A.; FONSECA, C. E. L.. **Baru (Dipteryx alata Vog)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 41 p. (Série Frutas Nativas, 10).
- ROBINSON, I. P. **Aloenzimas na genética de populações de plantas**. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, MG: UFV, 1998. cap. 3, p. 329-380.
- SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. **Baru: biologia e uso**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. 52 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 116)
- SANO, S. M.; BRITO, M. A.; RIBEIRO, J. F. Baru. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINICOSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Eds). **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. cap. 5, p. 76-99.

SCHOLOTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromossoma**, Berlin, v. 109, n. 8, p.365-371, 2000.

SEBBENN, A. M.; CARVALHO, A. C. M.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, S. M. B.; GAINO, A. P. S. C.; JOLIVET, C.; MORAES, M. L. T. Low levels of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, Washington, v. 106, n. 1, p.134-145, 2011.

SILVA, C. R. S.; ALBUQUERQUE, P. S. B.; ERVEDOSA, F. R.; MOTA, J. W. S.; SEBBENN, A.M. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. **Heredity**, Washington, v. 106, n. 1, p.973-985, 2011.

SOARES, T. N.; MELO, D. B.; RESENDE, L. V.; VIANELLO, R. P.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C. Development of microsatellite markers for the neotropical tree species *Dipteryx alata* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 99, n. 2, p.72-73, 2012.

TAMBARUSSI, E. V.; BOSHIER, D. H.; VENCOVSKY, R.; FREITAS, M. L. M.; DIDIO, O. J.; SEBBENN, A. M. Several Small: How Inbreeding Affects Conservation of *Cariniana legalis* Mart. Kuntze (Lecythidaceae) the Brazilian Atlantic Forest's Largest Tree. **International Forestry Review**, Salt Lake City - USA, v. 18, n. 4, p.502-510, 2016.

TARAZI, R.; MORENO, M.A.; GANDARA, F.B.; FERRAZ, E.M.; MORAES, M.L.T.; VINSON, C.C.; CIAMPI, A. Y.; VENCOVSKY, R.; KAGEYAMA, P.Y. High levels of genetic differentiation and selfing in the Brazilian cerrado fruit tree *Dipteryx alata* Vog. (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 33, p.78-85, 2010.

VIANNA, L. S. Caracterização da diversidade genética de duas populações naturais de *Vochysia bifalcata* Warm no Parque Nacional do Caparaó/ES. **Nucleus**, Ituverava, v. 12, n. 1, p.173-180, 2015.