



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

**Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa*  
Gomes) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil.**

**ANA KELLY DOS SANTOS MAIA**

**RECIFE - PE  
2017**

**Ana Kelly dos Santos Maia**

**Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas da Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia na área de concentração Melhoramento Genético de Plantas.

Orientador

Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva - UFRPE

Coorientador

Prof. Dr. Cícero Carlos de Souza Almeida - UFAL, Campus de Arapiraca

**Recife  
2017**

M217d Maia, Ana Kelly dos Santos

Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nos tabuleiros costeiros do nordeste do Brasil / Ana Kelly dos Santos Maia. – 2017.

57 f. : il.

Orientador: Edson Ferreira da Silva.

Coorientador: Cícero Carlos de Souza Almeida.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Variabilidade 2. Microssatélites 3. cpDNA 4. Filogeografia  
I. Silva, Edson Ferreira da, orient. II. Almeida, Cícero Carlos de Souza, coorient. III. Título

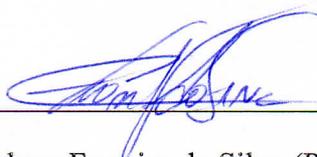
CDD 581.1

**Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa*  
Gomes) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil.**

**ANA KELLY DOS SANTOS MAIA**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 21/07/2017.

**Orientador:** \_\_\_\_\_



Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva (Presidente- Orientador)

**Examinadores:** \_\_\_\_\_



Prof. Dr. Wellington Ferreira do Nascimento (CCAA/UFMA)

(Membro Titular Externo)

Rômulo Maciel de Moraes Filho

Dr. Rômulo Maciel de Moraes Filho (Membro titular externo) - PNPd/UFRPE

RECIFE -PE

JULHO, 2017

A meu irmão Everton dos Santos (*In memoriam*),  
com todo meu amor e gratidão.

## **OFEREÇO**

À minha família, pelo apoio e incentivo.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar em todo o meu caminho e ter me dado saúde e força para superar todos os obstáculos.

Agradeço de forma especial ao meu padrasto (Antônio) e à minha mãe (Irene), por não medirem esforços para que eu pudesse levar meus estudos adiante.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realizar este curso de pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela concessão dos recursos para execução do presente trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida a longo dos dois anos de mestrado.

Ao professor Dr. Edson Ferreira da Silva, por toda orientação e ajuda que me foram dadas.

Ao meu coorientador Dr. Cicero Carlos pelo acolhimento no Laboratório de Recursos genéticos da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e ensinamentos durante as análises e obtenção dos resultados.

Aos membros da banca examinadora, por toda contribuição e valiosas sugestões para a melhoria desta pesquisa.

A Bióloga Iêda Ferreira, pelos ensinamentos, apoio e disponibilidade em auxiliar na condução desta pesquisa.

À pesquisadora Doutora Elisabeth Ann Veasey por me receber no Laboratório de Genética Ecológica de Plantas da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) para treinamento.

Ao casal Gabriel e Patrícia por me hospedarem em sua casa, e pela companhia nos passeios em Piracicaba-SP. Agradeço também ao Gabriel pela paciência em passar seus conhecimentos durante o treinamento no Laboratório de Genética Ecológica de Plantas da ESALQ.

Aos colegas do Laboratório de Genética de Populações (LGP-UFRPE), Allison e Danielson.

Ao colega de turma Tiago Lima por todo companheirismo nessa difícil jornada.

Aos meus colegas da UFAL, Iara, Tatiana, Júnior, Richard, Lydayanne Lilás, Gleica, André e demais, pelo apoio e receptividade no Laboratório de Recursos Genéticos.

As companheiras Ananda e Mariana, pelo tempo de moradia compartilhado. Foram muitas alegrias, passeios, conversas, conselhos e problemas compartilhados e enfrentados durante nossa convivência.

As companheiras Nataly e Eliane Paz pela receptividade em Arapiraca, pelas conversas e dias compartilhados.

Agradeço aos meus amigos, por confiarem em mim e estarem do meu lado em todos os momentos da vida.

Em fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que esta pesquisa fosse realizada, os meus sinceros agradecimentos!

MAIA, Ana Kelly Dos Santos. Diversidade e Estrutura Genética de Populações de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil. 2017. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017.

## RESUMO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera nativa do Brasil, amplamente distribuída no cerrado e nos tabuleiros costeiros. Produz frutos saborosos, nutritivos e de ampla utilização, com grande potencial para exploração econômica. Entretanto, as populações naturais de *H. speciosa* estão sofrendo intenso processo de erosão genética devido à especulação imobiliária e a expansão da fronteira agrícola, sem que tenha sido realizado estudo sobre a diversidade e estrutura genética. A carência de tais informações limita a adoção de estratégias eficientes de coleta e de conservação dos recursos genéticos. O objetivo deste trabalho foi analisar a diversidade e estrutura genética, bem como inferir os padrões filogeográficos das populações naturais de *H. speciosa* nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil. Marcadores microssatélites ou SSR (seis loci) e cpDNA (região trnH-psbA) foram utilizados com sucesso para estimar os índices de diversidade genética e inferências filogeográficas de quatro populações naturais de *H. speciosa* (96 indivíduos) nos Estados do Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Sergipe. A espécie mostrou moderada estruturação genética ( $F_{ST}=0,095$ ) com maior variabilidade genética dentro de populações (83%) do que entre populações (17%). Os valores de  $F_{ST}$  para as populações combinadas aos pares mostrou que a menor diferenciação genética foi entre Paraíba x Pernambuco (0,015), e a maior diferenciação entre Maranhão x Pernambuco (0,142). Observou-se que a população Maranhão foi a que mais divergiu das demais. No geral, para as populações estudadas o índice de fixação foi nulo ou negativo (-0,082). A análise do cpDNA revelou seis haplótipos sendo que a população de Sergipe apresentou maior diversidade de haplótipos e um haplótipo em comum com os Estados da Paraíba e Pernambuco. A população do Maranhão apresentou haplótipos exclusivos. A análise de variância molecular espacial revelou dois grupos com elevada estruturação genética ( $F_{ST} = 0,898$  e  $F_{CT} = 0,899$ ), com 89,92% da variação entre os grupos. Tais informações de diversidade e estrutura genética constituem importantes subsídios para aperfeiçoar a conservação *ex situ* e *in situ* dos recursos genéticos da mangabeira na região estudada e para pesquisas de pré-melhoramento genético dessa espécie.

**Palavras chaves:** variabilidade, microssatélites, cpDNA, filogeografia.

## ABSTRACT

The mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) is a native fruit tree of Brazil, widely distributed in the cerrado and coastal boards. It produces tasty, nutritious and widely used fruits, with great potential for economic exploration. However, the natural populations of *H. speciosa* are undergoing an intense process of genetic erosion as a result mainly of expansion of agricultural frontier and cities, without study on diversity and genetic structure of populations. The lack of such information is limited to the adoption of efficient collect and conservation of genetic resources. The objective of this work was to analyze the diversity and genetic structure, as well as to infer the phylogeographic patterns of the natural populations of *H. speciosa* on Northeast Coastal Boards of Brazil. Microsatellite or SSR (six loci) and cpDNA (trnH-psbA region) markers were used to estimate the genetic diversity indexes and to get phylogeographic inferences of four natural populations of *H. speciosa* (96 individuals) sampled in the States of Maranhão, Paraíba, Pernambuco and Sergipe. The species showed moderate genetic structuring ( $F_{ST} = 0.095$ ) with greater genetic diversity within populations (83%) than among populations (17%). The  $F_{ST}$  values for the pair of populations showed the smallest genetic differentiation between Paraíba x Pernambuco (0.015) and a larger between Maranhão and Pernambuco (0.142). It was observed that the Maranhão population had larger differentiation among four one. In general, for the populations studied, the fixation index was zero or negative (-0.082). A cpDNA analysis revealed six haplotypes and the Sergipe population presents a greater diversity of haplotypes, showing a haplotype in common with the States of Paraíba and Pernambuco. The population of Maranhão presents haplotypes exclusive. A spatial molecular variance analysis revealed two groups with high genetic structure ( $F_{ST} = 0.898$  and  $F_{CT} = 0.899$ ), with 89.92% of the variation between the groups. This information on diversity and genetic structure are important subsidies for optimizing ex-situ and in-situ conservation of the genetic resources of mangabeira on studied region and for search of pre-breeding research of this species.

**Keywords:** variability, microsatellites, cpDNA, phylogeography.

## FIGURAS

- Figura 1. Árvore adulta de *H. speciosa* (A), folhas (B) e frutos (C)..... 17
- Figura 2. Padrões da distribuição e frequência dos hapótipos de *H. speciosa* nas áreas estudadas para região plastidial *trnH-psbA* por locais de estudo (A). Distribuição dos clados na árvore filogenética (B). Rede de haplótipos obtidos pelo software NETWORK (C). Número de haplótipos, posição de variação e substituição de nucleotídeos encontrada na sequência (D)..... 51
- Figura 3. A Análise de cluster foi construída usando Bayesian approach to phylogeographic clustering (BPEC) (A). Previsão de ocorrência de cada indivíduo de *H. speciosa*. O gradiente corresponde à probabilidade condicional de cada indivíduo pertencer ao outro grupo (os valores variam no intervalo de 0 a 1,0). O triângulo indica amostras de um grupo, e os círculos indicam amostras de um segundo grupo, sendo cada ícone correspondente a um local de coleta (B)..... 52
- Figura 4. Potencial distribuição como probabilidade de ocorrência de *H. speciosa* para o presente (Now, 0 years BP), Last Glacial Maximum (LGM, 21000 years BP) e Last Interglacial (LIG, 120000-140000 years BP)..... 52
- Figura 5. Gráfico do valor de K pelo método  $\Delta K$  (A). Gráfico do valor de K pelo método SAMOVA (B). Diferenciação ou semelhança das populações de acordo com sua localização (C). Análise da estrutura das populações (D)..... 53

## TABELAS

Tabela 1. Informação dos locais amostrados, diversidade e índice de fixação em relação aos seis locos microssatélites analisados para quatro populações de <i>H. speciosa</i> .....	54
Tabela 2. Relação dos primers, Temperatura de anelamento (Ta), tamanho do fragmento (Tam. do Frag.), sequências, e fluorescência (F) dos microssatélites utilizados para estudo de diversidade genética de populações de <i>H. speciosa</i> .....	55
Tabela 3. Número de indivíduos ( <i>N</i> ), número de alelos ( $N_A$ ), frequência de alelos nulos ( <i>FAN</i> ), heterozigosidade observada ( $H_O$ ), heterozigosidade esperada ( $H_E$ ), índice de fixação (F), Equilíbrio de Hardy-Weinberg (E.H.W) diferenciação genética ( $F_{ST}$ ) e $G_{ST}$ em relação aos cinco locos avaliados para <i>H. speciosa</i> .....	55
Tabela 4. Análise de Variância molecular (AMOVA) de seis loci para as quatro populações de para <i>H. speciosa</i> .....	55
Tabela 5. Matriz de divergência genética - $F_{ST}$ (diagonal superior), <i>Nm</i> - Número de migrantes (diagonal inferior) em relação aos pares de populações de <i>H. speciosa</i> .....	56
Tabela 6. Análise de Variância molecular (SAMOVA) para dados de cpDNA de <i>H. speciosa</i> .....	56
Tabela complementar. Coordenadas geográficas de cada indivíduo das quatro populações de <i>H. speciosa</i> .....	56

## Sumário

<b>RESUMO</b> .....	07
<b>ABSTRACT</b> .....	08
<b>FIGURAS</b> .....	09
<b>TABELAS</b> .....	10
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 Origem e aspectos botânicos da mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes)..</b>	15
<b>2.2 Importância socioeconômica da mangabeira</b> .....	17
<b>2.3 Ocorrência da mangabeira nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil</b> .....	18
<b>2.4 Recursos genéticos de mangabeira</b> .....	19
<b>2.5 Marcadores moleculares no estudo de populações de mangabeira</b> .....	20
<b>Referências</b> .....	22
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil</b> .....	31
<b>Resumo</b> .....	32
<b>Abstract</b> .....	33
<b>Introdução</b> .....	34
<b>Material e Métodos</b> .....	36
<b>Área de estudo e amostragem</b> .....	36
<b>Extração de DNA e Otimização das regiões de microssatélites</b> .....	36
<b>Análise dos dados microssatélites</b> .....	37
<b>Obtenção e análise dos dados de cpDNA</b> .....	38

<b>Resultados.....</b>	40
<b>Análise dos microssatélites, diversidade genética e índice de fixação .....</b>	40
<b>Estruturação das populações.....</b>	41
<b>Discussão.....</b>	42
<b>Conclusões.....</b>	47
<b>Agradecimentos.....</b>	48
<b>Referências.....</b>	48

**CAPITULO I**  
**REVISÃO DE LITERATURA**

## 1 INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma frutífera da família Apocynaceae, de porte médio, que atinge de 5 a 10 metros de altura. Nativa do Brasil é encontrada espontaneamente em diversas regiões do país, tais como, Tabuleiros costeiros e baixada litorânea do Nordeste, onde é mais abundante, e também nas áreas de cerrado (LEDERMAN et al., 2000). Fora do Brasil, à presença dessa fruteira foi descrita na Bolívia (PRADO, 2000), Paraguai, Argentina e Peru (SILVA JÚNIOR et al., 2006).

A espécie apresenta seis variedades botânicas que são elas: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *pubescens*. Nos Estados do Nordeste ocorre a predominância da variedade *speciosa*; a variedade *gardneri* ocorre no Brasil Central; a *pubescens* em Goiás e Minas Gerais; a *cuyabensis* no Mato Grosso, mais especificamente na Chapada dos Guimarães; a *maximiliani* em Minas Gerais e a *lundii* ocorre em Minas Gerais, Pernambuco, Bahia e Goiás (MONACHINO, 1945).

Os frutos são consumidos *in natura* e utilizados na preparação de geleia ou sorvete. Por apresentar sabor característico, a mangaba tornou-se muito apreciada pela população (MOURA et al., 2011). É considerada uma das frutíferas mais populares nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde se encontram os maiores mercados para esse fruto (SOUZA et al., 2007). Trata-se de uma espécie de grande potencial socioeconômico devido seus diversos usos, com grande demanda e bons preços no mercado, além de gerar renda para várias famílias.

Essa espécie ainda está em fase de domesticação, portanto, aspectos relacionados ao seu cultivo necessitam ser estudados, como por exemplo, a propagação vegetativa, seleção de genótipos promissores, desenvolvimento e adaptação de práticas culturais, estudos sobre a fenologia da planta e fatores relacionados à pré e pós-colheita do fruto (LEDO et al., 2007).

Em populações naturais de mangabeira, tem sido observada forte erosão genética devido à intensa atividade antrópica decorrente da especulação imobiliária, intensificação da atividade canavieira, cultivo de coqueiro, implantação de pastagens e da desestruturação de sistemas tradicionais de conservação das populações remanescentes. Ressalta-se ainda, que tais recursos genéticos da mangabeira ainda são pouco conhecidos e sua conservação, caracterização e uso, ainda necessitam de muitas ações de pesquisa e desenvolvimento (SILVA JUNIOR et al., 2006). Nesse sentido, a ampliação dos conhecimentos sobre a diversidade e estrutura genética das populações

de mangabeira é de grande importância para implementação de estratégias de conservação de recursos genéticos e para melhoramento genético da espécie.

Nas últimas décadas, a Genética de Populações proporcionou grandes avanços nos estudos de populações naturais, principalmente devido ao desenvolvimento e aprimoramento da genotipagem (identificação de genótipos) por meio dos marcadores moleculares. Parâmetros obtidos por meio de tais marcadores permitem que se façam inferências à cerca da diversidade genética, sistema reprodutivo, estrutura genética populacional, origem e evolução das espécies.

Ainda em relação às populações naturais, tais parâmetros fornecem subsídios para a conservação dos recursos genéticos *ex situ* e *in situ*, repovoamento de áreas degradadas, pré-melhoramento genético, assim como para exploração econômica de espécies nativas. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram caracterizar a diversidade e estrutura genética, e inferir padrões filogeográficos das quatro populações naturais de *H. speciosa* Gomes localizada nos Tabuleiros costeiros dos Estados de Sergipe, Paraíba, Pernambuco e Maranhão.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Origem e aspectos botânicos da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**

A mangabeira é uma frutífera nativa do Brasil, e seu nome em tupi-guarani significa “coisa boa de comer” (LEDERMAN et al., 2000). Essa espécie tem ampla distribuição geográfica, pois ocorre do Estado de São Paulo ao Estado do Amapá (SILVA JUNIOR et al., 2011). Os principais centros de diversidade de mangabeira no Brasil são: Costa Atlântica, Baixo Amazonas (principalmente Pará e Amapá), Nordeste (Caatinga, sobretudo as áreas de tabuleiros de savanas e zonas de transição caatinga-cerrado), Brasil Central (Cerrado), Mata Atlântica (nas áreas de cerrados litorâneos e restingas dos setores) e Bahia/Espírito Santo/ Vale do Rio Doce (do litoral de Sergipe ao Espírito Santo) (GIACOMETTI, 1992).

De acordo com Lederman et al. (2000), esta frutífera ocorre em maior quantidade em solos pobres e de textura arenosa da região do Cerrado e Tabuleiros Costeiros, onde ocorre temperaturas médias anuais entre 24°C e 26°C e altitudes de até 1.500 m, desenvolvendo-se bem em regiões que apresentam precipitação entre 750 e 1.600 mm anuais e é bastante tolerante a períodos de escassez hídrica.

A espécie *H. speciosa* pertence ao grupo das Eudicotiledoneas, ordem *Gentianales*, e família Apocynaceae. Essa família apresenta cerca de 300 gêneros e 2.000 espécies distribuídas no mundo, e é estimado que 41 gêneros e 376 espécies ocorram no Brasil. O gênero *Hancornia* é monoespecífico, a espécie *H. speciosa* Gomes possui seis variedades botânicas que se distinguem em algumas características morfológicas como tamanho de folha e flor. As variedades são: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *pubescens* (MONACHINO, 1945).

Ainda segundo Monachino (1945), as variedades de *H. speciosa* estão distribuídas da seguinte maneira: a variedade *speciosa* predomina no Nordeste; a *gardneri* ocorre no Brasil Central; a *pubescens* em Goiás e Minas Gerais; a *cuyabensis* na Chapada dos Guimarães (Mato Grosso); a *maximiliani* em Minas Gerais e a *lundii* nos Estados de Minas Gerais, Pernambuco, Bahia e Goiás. Entretanto, em relação à ocorrência da variedade *lundii* no Nordeste do Brasil não existe outros relatos, nem tem sido encontrada.

A árvore adulta da mangabeira apresenta altura variando de 2 a 10 m, copa irregular cujos troncos são tortuosos com ramificações e ásperos. Seus frutos são do tipo baga, de forma elipsoide ou arredondado e exocarpo com coloração amarelada. A polpa do fruto é doce, de aroma agradável e os sabores exóticos característico do fruto da mangabeira associados à elevada acidez e, seu alto conteúdo de sólidos solúveis são bastante apreciados (SILVA JUNIOR e LÉDO, 2006).

As folhas são do tipo simples, oposta e alternada, podendo ser pilosas ou glabras e curto-pecioladas, com forma e tamanho variável. A planta apresenta inflorescência com número de flores variando de um a sete, as quais podem ser do tipo dicásio ou cimeira terminal (ALMEIDA et al., 1998). As flores são hermafroditas, em forma de campânula alongada (tubular) e de cor branca. Quanto ao seu sistema reprodutivo, a mangabeira é uma espécie alógama que possui autoincompatibilidade genética e é polinizada por insetos (DIAS e MARANHÃO, 1994; DARRAULT e SCHLINDWEIN, 2003).

No Nordeste do Brasil o florescimento da mangabeira ocorre em dois períodos do ano, o primeiro de abril a junho, e amadurecimento dos frutos ocorre de julho a setembro, e o segundo de agosto a outubro e amadurecimento dos frutos no período de janeiro e março. Na região de Belém, também ocorrem duas épocas de frutificação, sendo uma no primeiro semestre do ano, com produção em março, e a outra no segundo

semestre do ano, com produção em setembro. Na região do Cerrado, observa-se apenas uma safra por ano, que ocorre nos meses de outubro a dezembro. Já em Minas Gerais, o florescimento ocorre de setembro a novembro e a frutificação nos meses de dezembro a janeiro. No Mato Grosso do Sul, a floração da mangabeira ocorre de agosto até outubro, com frutificação de abril a maio (SILVA JUNIOR e LÉDO, 2006).



**Figura 1.** Árvore adulta de *H. speciosa* (A), folhas (B) e frutos (C). Foto: MAIA, A.K.S.

## 2.2 Importância socioeconômica da mangabeira

A mangabeira é considerada uma das frutíferas mais promissoras, principalmente para a região Nordeste, onde grande número de famílias obtém renda durante parte do ano através da colheita e comercialização desses frutos (SILVA JÚNIOR et al., 2006). Por apresentar polpa de sabor e aroma agradável, os frutos da mangabeira são utilizados

de forma natural ou como matéria prima para preparar suco, sorvete e produtos industrializados como doces, compotas, geleias, xaropes, vinhos e vinagres (MATTIETTO et al., 2003).

Os frutos da mangabeira possuem em torno de 77% de polpa, 11% de casca e 12% de semente e excelente valor nutritivo. O teor de proteínas é de 0,7 g/100g de polpa, além de ser rica em vitaminas A, B, e C, ferro, fosforo e cálcio. Além dos frutos, outras partes da planta podem ser exploradas economicamente, como por exemplo, o tronco da mangabeira para extração de látex para produção de borracha (PINHEIRO e PINHEIRO, 2006; SILVA JUNIOR et al., 2011).

Também há citações da utilização da mangabeira como planta medicinal. Soares et al., (2004) relatam a utilização do látex da mangabeira no tratamento de tuberculose, dermatoses, herpes e verrugas. De acordo com Ferreira et al., (2007) o extrato etanólico de folhas de mangabeira promove o relaxamento de vasos em aorta de ratos. Tal propriedade vasodilatadora tem utilização para o tratamento de hipertensão, ressaltando o potencial de *H. speciosa* como anti-hipertensivo (MANCIA et al., 2007; SILVA et al., 2011).

A mangabeira encontra-se em estado inicial de domesticação, apesar do grande potencial para exploração econômica. A produção ainda é feita essencialmente de maneira extrativista e existem poucos pomares implantados (GANGA et al., 2010). Portanto, há a necessidade de somar esforços para que haja adequação de genótipos de mangabeira aos diferentes sistemas de produção por meio de programas de melhoramento genético visando desenvolvimento e/ou seleção de genótipos superiores.

Para tanto, é imprescindível que se amplie os conhecimentos em relação a diversidade genética disponível tanto nas coleções de germoplasma como nas populações naturais. A partir desse conhecimento torna-se possível o desenvolvimento de genótipos com mais diversas características de interesse agrônomo (SILVA et al., 2011).

### **2.3 Ocorrência da mangabeira nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil**

Os Tabuleiros Costeiros estendem-se desde o extremo sul da Bahia até o Maranhão, acompanhando o litoral nordestino brasileiro. Apresenta área de aproximadamente 98.503 km<sup>2</sup>, correspondendo a 5,92% da região Nordeste, sua topografia é do tipo plana ou suavemente ondulada, onde predomina solos de baixa

fertilidade e elevada profundidade. A maior parte dos tabuleiros costeiros situa-se na Zona da Mata, em que a vegetação original era a floresta tropical, e que está sendo devastada devido à exploração econômica. A área dos Tabuleiros Costeiros é subdividida em 17 unidades geoambientais, sendo estas classificadas de acordo com sua vegetação natural, relevo, solos, clima, recursos hídricos e o seu quadro agrossocioeconômico (SILVA et al., 1993). Nessa região estão localizadas as áreas de maior antropização do Nordeste, com maior povoamento, e, maior quantidade de áreas de uso agrícola intensificado (SILVA JÚNIOR et al., 2006).

Assim como a mangabeira, muitas outras espécies frutíferas estão associadas a esse tipo de vegetação, como o cajueiro, o jenipapeiro, a cajazeira, o araçazeiro, a pitangueira, e outras (CINTRA e LIBARDI, 1998; SILVA JÚNIOR et al., 2006), portanto, vulneráveis.

Por ser uma planta típica das áreas de Cerrados, Tabuleiros Costeiros e Baixada Litorânea, a mangabeira ocorre em todos os Estados do Nordeste do Brasil. No litoral da referida região, as populações nativas encontram-se desde o Maranhão até a divisa com o Espírito Santo (AGUIAR FILHO et al., 1998; SILVA JÚNIOR et al., 2006). Atividades antrópicas como a especulação imobiliária e a implantação de monoculturas, como cana-de açúcar, coco e pastagens, são as principais causadoras de erosão genética da espécie *H. speciosa*, promovendo à transformação drástica da paisagem dessa região, devido à redução da vegetação (SILVA JÚNIOR et al., 2006; VIEIRA NETO et al., 2009). Sendo assim, essas populações naturais que se encontram nos Tabuleiros Costeiros estão bastante vulneráveis a perda de diversidade genética.

#### **2.4 Recursos genéticos de mangabeira**

Atualmente existem oito bancos de germoplasma no Brasil, sendo que o maior pertence à Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba - EMEPA-PB, localizado em João Pessoa, implantado em 1991, que possui 311 acessos (BARREIRO NETO, 2003). A Universidade Federal de Alagoas em parceria com a SEAP-AL (Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Pesca de Alagoas) possui 40 acessos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade, localizado no município de Rio Largo (ESPÍNDOLA et al., 2003). A Universidade Estadual de Goiás possui um banco de germoplasma de mangabeira com 400 acessos, a Embrapa Tabuleiros Costeiros possui 253 acessos e a Embrapa Amapá tem 86 acessos. A Universidade Federal de Goiás possui 20 acessos, implantado em 2005. O da Embrapa Meio Norte possui 39 acessos, e o da Embrapa Cerrados possui 15 acessos (SILVA JUNIOR et al., 2011).

Devido à redução da vegetação nativa dos ecossistemas onde ocorre a mangabeira, essa espécie tem se tornado uma das espécies frutíferas mais ameaçadas pela erosão genética no Brasil (MOURA, 2003). Nesse sentido, a realização de coleta visando o enriquecimento dos bancos de germoplasma, e a criação de novos bancos é uma estratégia indicada para minimizar as perdas causadas pela erosão genética. Entretanto, ainda se necessita de informações sobre a diversidade e estrutura genética das populações naturais de *Hancornia* que são fundamentais, tanto como subsídio para aumentar a eficiência nas atividades de coleta, como também para a preservação dos recursos genéticos *in situ*.

## **2.5 Marcadores moleculares no estudo de populações de mangabeira**

Nos últimos anos, os marcadores microssatélites ou *Simple Sequence Repeats* (SSR) vem se destacando na obtenção e utilização de informações para estudos ecológicos e genéticos. Os SSR são sequências (de uma a dez bases) repetitivas em “tandem” (unidades dispostas uma atrás da outra), e sua análise é feita por meio da técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR), em que são utilizados iniciadores (*primers* - Forward e Reverse), ao quais são complementares as regiões que flanqueiam os microssatélites (GEMAYEL et al., 2012; HOSBINO et al., 2002).

Um dos objetivos do estudo genético de populações é descrever as variações genéticas que existem na área que está sendo estudada, além de quantificar a variabilidade genética existente nas espécies (HAMRICK e GODT, 1989; BITTENCOURT, 2007). Entre os marcadores moleculares utilizados nesse processo, os marcadores microssatélites ou SSR representam uma das técnicas mais utilizadas para estudos de polimorfismo entre sequências de DNA, por serem codominantes, abundantes, distribuídos por todo o genoma da espécie, multialélicos, e baseados em PCR (BUSO et al., 2003).

Quanto as informações referentes à diversidade em populações de mangabeira, Martins et al., (2012) analisaram a variabilidade genética de populações de mangabeira localizadas nos Estados de Pernambuco e Alagoas, utilizando isoenzimas. Moura et al., (2011) caracterizaram a estrutura genética de oito populações de *H. speciosa* encontradas no estados de Goiás, Bahia e Minas Gerais por meio de marcadores RAPD. Jimenez et al., (2015) utilizando marcadores ISSR analisou a diversidade genética de indivíduos de Pernambuco.

Em relação à utilização de marcadores microssatélites no estudo de *H. speciosa* há poucos estudos, provavelmente porque o desenvolvimento de primers pra essa espécie ocorreu recentemente. A partir da divulgação da relação de iniciadores desenvolvidos para *H. speciosa* por Rodrigues et al., (2015), acredita-se que tal conhecimento se ampliará. Usando esses marcadores Amorim et al., (2015), analisaram a diversidade genética e estrutura de seis populações de mangabeira dos Estados do Ceará, Pernambuco e Sergipe. Já em relação a estudos de filogeografia com *H. speciosa* não há relato na literatura.

Além das informações geradas pela análise de DNA nuclear, a porção de DNA citoplasmático, localizada nos cloroplastos e mitocôndrias das células vegetais é bastante apropriada para estudos filogenéticos e complementares as análises de DNA nuclear. As sequências de cloroplastos de DNA (cpDNA) também são de grande interesse para genética de populações e estudos filogeográficos em plantas. Para tanto, foram projetadas sequências (primers) para amplificação em ampla gama de Angiospermas, os quais estão localizados no Large Single Copy (LSC).

Segundo Scarcelli et al., (2011) os marcadores de cpDNA mais comumente usados para inferência filogenética são *rbcL*, *atpB*, *trnL-F*, *matK*, *psbA-trnH*, *RPOC1*, *RPOB-trnC*, *psbK-psbI*, *atpF-atpH*, *atpH-atpI* (DURVALL et al., 1993; SOLTIS et al., 2000; TABERLET et al., 1991; TAMURA et al., 2004; KRESS et al., 2005; CHASE et al., 2007; ZENG et al., 2010; HOLLINGSWORTH et al., 2009; SEBERG e PETERSEN, 2009).

Neste contexto, a utilização de marcadores microssatélites para análise de DNA nuclear e de cpDNA nas populações naturais de *H. speciosa* Gomes proporciona melhor conhecimento da diversidade e estrutura genética das populações bem como aspectos relacionados a estrutura filogeográfica.

As informações geradas através da análise de diversidade genética e as relações entre e dentro de populações são fundamentais para o melhoramento genético vegetal, conservação e o estudo da ecologia evolutiva das populações. Esses estudos podem identificar alelos que afetam ou não a capacidade do organismo de sobreviver no seu habitat natural, ou ainda, proporcionar a capacidade desses indivíduos sobreviverem nos mais diferentes habitats. O conhecimento adquirido nesses trabalhos de diversidade é importante para a conservação de germoplasma de indivíduos ou populações, e para identificação de variedades ou raças (DURAN et al., 2009).

## Referências

AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J.; ARAÚJO, I. A. **A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) - Domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa: Emepa - PB, 1998, 26 p. (EMEPA-PB. Documentos, 24).

ALMEIDA, S. P. **Cerrado: aproveitamento alimentar**. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998. 188 p.

AMORIM, J. A. E.; MATA, L. R.; LÉDO, A. S.; AZEVEDO, V. C. R.; SILVA, A. V. C. Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, p. 823-833, 2015.

BARRETO NETO, M. Recursos genéticos para o melhoramento da mangabeira no Estado da Paraíba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais ... Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM.**

BITTENCOURT, R. **Caracterização da estrutura genética interna e aspectos da autoecologia de uma população natural de imbuia (*Ocotea porpsa* - Lauraceae)**. 2007, 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BUSO, G. S. C.; CIAMPI, A. Y.; MORETZSOHN, M. C.; AMARAL, Z. P. S.; BRONDANI, R. V. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 6, n. 30, p. 46-50, 2003.

CHASE, M.; COWAN, R.; HOLLINGSWORTH, P.; VAN DEN BERG, C.; MADRINNA, S. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. **Taxon**, Utrecht, v. 56, p. 295-299, 2007.

CINTRA, F. L. D.; LIBARDI, P. L. Caracterização física de uma classe de solo do ecossistema do Tabuleiro Costeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 367-378, 1998.

DARRAULT, R.; SCHLINDWEIN, C. Polinização de *Hancornia speciosa* (Apocynaceae). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM

DIAS, M. G. L.; MARANHÃO, T. O. Análise citogenética e palinológica quanto à viabilidade e morfologia em mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Biociências**, Maceió, v. 1, p. 61-69, 1994.

DURAN, C.; EDWARDS, D.; BATLEY, J. Molecular marker discovery and genetic map visualisation. In: EDWARDS, D., HANSON, D.; STAJICH, J. (Eds.). **Applied Bioinformatics**. New York: Springer, 2009. p. 165-189.

DUVALL, M.; CLEGG, M.; CHASE, M.; CLARK, W.; KRESS, W. Phylogenetic  
ESPÍNDOLA, A. C. de M.; CARVALHO, N. S. G.; ALMEIDA, C. C. S. Prospecção, coleta e manutenção de germoplasma de mangabeira em Alagoas. In: SIMPÓSIO

BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. Disponível em CD-ROM.

ESPÍNDOLA, A. C. M.; CARVALHO, N. S. G.; ALMEIDA, C. C. S. Prospecção, coleta e manutenção de germoplasma de mangabeira em Alagoas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. Disponível em CD-ROM.

FERREIRA, H. C.; SERRA, C. P.; ENDRINGER, D. C.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. Endothelium-dependent vasodilatation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. **Phytomedicine**, Jena, v. 14, p. 473-478, 2007.

GANGA, R. M. D.; FERREIRA, G. A.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 32, p. 101-113, 2010.

GEMAYEL R.; CHO, J.; BOEYNAEMS, S.; VERSTREPEN, K. J. Beyond Junk-Variable Tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding sequences. **Genes**, Amsterdã, v. 3, p. 461-480, 2012.

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1., 1992, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1992. p. 13-27.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A.H.D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 1989. p. 43-63.

HOLLINGSWORTH, P.; FORREST, L.; SPOUGE, J.; HAJIBABAEI, M.; RATNASINGHAM, S. A DNA barcode for land plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 31, p. 12794-12797, 2009.

HOSBINO, A. A.; PALMIERI, D. A.; BRAVO, J. P.; PEREIRA, T. E. B.; LOPES, C. R.; GIMEMES, M. A. Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n. 29, p. 146-150, 2002.

JIMENEZ, H.; MARTINS, L. S. S.; MONTARROYOS, A. V. V.; SILVA JUNIOR, J. F.; ALZATE-MARIN, A. L.; MORAES FILHO, R. M. Genetic diversity of the Neotropical tree *Hancornia speciosa* Gomes in natural populations in Northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2015, p. 10-4238, 2015.

KRESS, J.; WURDACK, K.; ZIMMER, E.; WEIGT, L.; JANZEN, D. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, p. 8369-8374, 2005.

LEDERMAN, I. E.; JÚNIOR, J. F. S.; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 35 p. (Série Frutas Nativas, 2).

LEDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOSA, S. B. S. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 989-993, 2007.

MANCIA, G.; BACKER, G.; DOMINICZAK, A.; CIFKOVA, R.; FAGARD, R.; GERMANO, G.; GRASSI, G.; HEAGERTY, A. M.; KJELDSEN, S. E.; LAURENT, S.; NARKIEWICZ, K.; RUILOPE, L.; RYNKIEWICZ, A.; SCHMIEDER, R. E.; BOUDIER, H. A.; ZANCHETTI, A. Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **Journal of Hypertension**, London, v. 25, n. 6, p. 1105-1187, 2007.

MARTINS, G. V.; MARTINS, L. S. S.; VEASEY, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, E. F. Diversity and genetic structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 34, p. 1143-1153, 2012.

MATTIETTO, R. A.; SOARES, M. S.; RIBEIRO, C. C. Caracterização física e físico-química de frutos de mangaba provenientes de Belém-PA. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROM.

MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucuman, v. 11, p. 19-48, 1945.

MOURA, N. F. **Estrutura genética de subpopulações de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nos cerrados do Brasil Central**. 2003, 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2003.

MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; VENKOVSKY, R.; NAVES, R. V.; AGUIAR, A. V.;  
MOURA, M. F. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the Cerrado region of central Brazil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 3, p. 473-481, 2011.

PINHEIRO, E.; PINHEIRO, F. S. V. Produção de borracha. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 233-245.

PRADO, O. Q. Descripción del Bosque de “El Tumbador” (Puerto Suárez, Bolívia). In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 3., 2000, Corumbá, MS. **Anais...** Corumbá: *Embrapa Pantanal*, 2001. Disponível em CD-ROM, Seção Aspectos Bióticos.

RODRIGUES, A. J. L.; YAMAGUISHI, A. T. CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; LIMA, J. S.; TELLES, M. P. C. Development of microsatellite markers for *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). **Genetics Molecular Research** 14:7274-7278, 2015.

SCARCELLI, N.; BARNAUD, A.; EISERHARDT, W.; TREIER, U. A.; SEVENO, M.; D'ANFRAY, A.; VIGOUROUX, Y.; PINTAUD, J. C. Set of 100 Chloroplast DNA primer pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. **PLoS ONE** 6:e19954, 2011.

SEBERG, O.; PETERSEN, G. How many loci does it take to DNA barcode a *Crocus*? **PLoS ONE** 4:e4598, 2009.

SILVA JÚNIOR, J. F.; ARAUJO, I. A.; BARREIRO NETO, M.; ESPÍNDOLA, A. C. M.; CARVALHO, N. S. G. Recursos genéticos nos Tabuleiros Costeiros e baixada litorânea do Nordeste. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. **A Cultura da mangaba**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 57-74.

SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. Botânica. In: SILVA JUNIOR, J. F. da; LÉDO, A. da S. (Eds.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 25-33.

SILVA JÚNIOR, J. F.; MOTA, D. M.; SCHMITZ, H. No rastro da mangabeira. In: MOTA, D. M.; SILVA JÚNIOR, J. F.; SCHMITZ, H.; RODRIGUES, R. F. A. (Ed.). **A mangabeira, as catadoras, o extrativismo**. Belém: Embrapa, 2011. p. 45-76.

SILVA, A. V. C.; SANTOS, A. R. F.; WICKERT, E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; COSTA, T. S. Divergência genética entre acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4, p. 572-578, 2011.

SILVA, F. B. R.; RICÉ, G. R.; TONNEAU, J. P.; SOUZA NETO, N. C.; BRITO, L. T. L.; CORREIA, R. C.; CAVALCANTI, A. C.; SILVA, F. H. B. B.; SILVA, A. B.; ARAÚJO FILHO, J. C.; LEITE, A. P. **Zoneamento agroecológico do Nordeste: diagnóstico do quadro natural e agrossocioeconômico – Caracterização das unidades geoambientais.** Petrolina: EMBRAPA-CPATSA/ Recife: EMBRAPA-CNPS-Coordenadoria Regional do Nordeste, 1993. v. 2, 387 p. (Documentos, 80).

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. R. G.; PAIVA, P. D. O. **Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).** Lavras: Embrapa, 2004. 12 p. (Boletim Agropecuário, 67).

SOLTIS, D.; SOLTIS, P.; CHASE, M.; MORT, M.; ALBACH, D. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 133, p. 381-461, 2000.

SOUZA, F. G. de.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; ARAÚJO, I. A. Qualidade pós colheita de frutos de diferentes clones de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1449-1454, set./out., 2007.

TABERLET, P.; GIELLY, L.; PAUTOU, G.; BOUVET, J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 17, p. 1105-1109, 1991.

TAMURA, M.; YAMASHITA, J.; FUSE, S.; HARAGUCHI, M. Molecular phylogeny of monocotyledons inferred from combined analysis of plastid matK and rbcL gene sequences. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 117, p. 109-120, 2004.

VIEIRA NETO, R. D.; MELO, V. S.; DANTAS, J. O. **Caracterização do sistema produtivo da mangabeira no Município de Itaporanga D'Ajuda, Sergipe**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

ZENG, C.; ZHANG, Y.; TRIPLETT, J.; YANG, J.; LI, D. Large multi-locus plastid phylogeny of the tribe Arundinarieae (Poaceae: Bambusoideae) reveals ten major lineages and low rate of molecular divergence. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 56, p. 821-839, 2010.

## **CAPITULO II**

**Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes var. *speciosa*) nos tabuleiros costeiros do Nordeste do Brasil.**

Trabalho a ser enviado para a **Revista Genetics and Molecular Biology**

1 Diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira (*Hancornia speciosa*  
2 Gomes var. *speciosa*) nos tabuleiros costeiros do Nordeste do Brasil.

3 **Short running title:** Genética de populações de mangabeira

4 **Resumo**

5 A mangabeira é uma importante árvore frutífera silvestre no Brasil. No presente estudo  
6 foi analisada a diversidade e estrutura genética de populações de mangabeira nos  
7 Tabuleiros Costeiros do Nordeste do Brasil. Para tanto, foram utilizados seis  
8 marcadores microssatélites e uma região de cpDNA (trnH-psbA) para análise de 96  
9 indivíduos (24 indivíduos de quatro populações). A diversidade genética ( $H_E$ ) variou de  
10 0,52 a 0,64 e o valor médio do índice de fixação (F) para as populações estudadas foi  
11 negativo para três populações e baixo uma, indicando excesso de heterozigotos levando  
12 em consideração o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Com base nos microssatélites houve  
13 maior diversidade dentro (0,83) do que entre populações (0,17) que correspondente ao  
14 índice de diferenciação. A análise do cpDNA mostrou a formação de seis haplótipos,  
15 sendo as populações de Sergipe e Paraíba as que apresentaram maior e menor  
16 diversidade de haplótipos, respectivamente e, Maranhão apresentou haplótipos  
17 exclusivos. Tais dados permitiu a formação de dois clusters, um constituído pelas  
18 populações Sergipe, Pernambuco e Paraíba e outro constituído pela população  
19 Maranhão. Tais informações constitui importante subsídio para otimizar a conservação  
20 *ex situ* e *in situ* dos recursos genéticos e para pesquisas de pré-melhoramento genético  
21 da mangabeira.

22 **Palavras chave:** microssatélite, variabilidade, cpDNA, filogeografia, conservação.

23

**Abstract**

24  
25 Mangabeira is an impotent tree fruit wild in Brazil. In the present work were analyzed  
26 the diversity and genetic structure of four natural populations of mangabeira in the  
27 Coastal Tabuleiros of the Northeast of Brazil. For the purpose, six microsatellite or SSR  
28 loci and cpDNA (trnH-psbA region) markers were used to estimate the genetic diversity  
29 indexes and to get phylogeographic inferences. The genetic diversity ( $H_E$ ) ranged from  
30 0.52 to 0.64, and the mean value of the fixation index ( $F$ ) were negative for three  
31 populations and low for another, indicating excess heterozygotes based on Hardy-  
32 Weinberg Equilibrium. By microsatellites markers it was Observed Larger diversity  
33 within populations (0.83) than among populations (0.17), that corresponding the  
34 average of genetic differentiation. The analysis of the cpDNA showed formation of six  
35 haplotypes, being that the populations of Sergipe and Paraíba present bigger and smaller  
36 diversity of haplotypes, respectively, and Maranhão one has exclusives haplotypes.  
37 These data allowed the formation of two clusters, one consisting of populations Sergipe,  
38 Pernambuco and Paraíba and another constituted by the Maranhão population. This  
39 information is important in order to optimize ex-situ and in-situ conservation of the  
40 genetic resources and for genetic pre-breeding research of mangabeira.  
41 **Keywords:** microsatellite, variability, cpDNA, phylogeography, conservation.

## 42 **Introdução**

43

44 A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é a única espécie desse gênero,  
45 entretanto, são descritas seis variedades: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var.  
46 *maximiliani*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *lundii*, *H. speciosa* var.  
47 *garneri* e *H. speciosa* var. *pubescens* (Monachino, 1945). É uma espécie amplamente  
48 distribuída no Brasil e ocorre também na Bolívia (Prado, 2000), Paraguai, Argentina e  
49 Peru (Silva Junior *et al.*, 2006). No Nordeste brasileiro a mangabeira é endêmica  
50 principalmente nos tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas (Lederman *et al.*, 2000;  
51 Aguiar Filho *et al.*, 1998), desde Estado do Espírito Santo até Maranhão (Aguiar filho *et*  
52 *al.*, 1998). Porém, também ocorre na chapada diamantina (Bahia) e chapada do Araripe  
53 (Ceará).

54 A mangabeira é uma espécie que se encontra em estágio inicial de domesticação  
55 (Ganga *et al.*, 2010), visando principalmente à exploração de frutos. Seus frutos podem  
56 ser consumidos *in natura* ou utilizados para produção de diversos produtos como doces,  
57 xaropes, compotas, vinho, vinagre, licor, geleia e principalmente suco e sorvete (Vieira  
58 Neto, 1994; Aguiar Filho *et al.*, 1998). A exploração extrativista dos frutos da  
59 mangabeira tem sido importante fonte de renda para diversas famílias, principalmente  
60 no Nordeste do Brasil (Silva Júnior *et al.*, 2006). Além da exploração alimentícia dos  
61 frutos, o caule da mangabeira produz látex que tem potencial para ser explorado visando  
62 a produção de borracha (Pinheiro e Pinheiro, 2006; Lorenzi, 1998), e várias partes da  
63 planta tem sido utilizada para fins medicinais (Soares *et al.*, 2004).

64 Entretanto, as populações naturais de mangabeira que ocorrem nos tabuleiros  
65 costeiros do Nordeste brasileiro tem sofrido forte pressão antrópica ao longo do tempo,  
66 principalmente decorrente da especulação imobiliária e do desmatamento visando ao  
67 cultivo agrícola (Vieira Neto, 1998). Vieira Neto *et al.* (2002) ressalta que a especulação

68 imobiliária e a implantação de monoculturas, como coqueiro, cana-de-açúcar e  
69 pastagens são as principais causas da redução da vegetação nativa e do número de  
70 mangabeiras nas baixadas litorâneas. Segundo Silva Junior *et al.* (2006) e Silva Junior  
71 *et al.* (2011), tais fatores são as principais causas de erosão genética dessa espécie na  
72 referida áreas de ocorrência.

73 A acelerada perda de diversidade da mangabeira nos Tabuleiros Costeiros e  
74 baixadas litorâneas do Nordeste brasileiro expõe a urgente necessidade de estabelecer  
75 estratégias de conservação *in situ*, bem como de se realizar coleta de germoplasma seja  
76 visando o enriquecimento dos bancos de germoplasma existentes e/ou para ser utilizado  
77 em programas de pré-melhoramento genético da espécie. Para tanto, é de fundamental  
78 importância que seja gerada informações sobre a diversidade e estrutura genética das  
79 populações naturais (Epperson, 1992). De acordo com Chung *et al.* (1998) tais  
80 informações também dá subsídios para estabelecer estratégias de amostragem em  
81 populações naturais.

82 Os marcadores moleculares microssatélites (SSR) tem sido amplamente utilizados  
83 para acessar informação a cerca da diversidade e estrutura genética de populações  
84 naturais. Tais marcadores são sequências (de uma a dez bases) repetitivas em “tandem”  
85 (unidades dispostas uma atrás da outra), e sua análise é feita por meio da técnica de  
86 *Polymerase Chain Reaction* (PCR), em que são utilizados iniciadores (*primers* -  
87 Forward e Reverse), ao quais são complementares as regiões que flanqueiam os  
88 microssatélites (Gemayel *et al.*, 2012; Hosbino *et al.*, 2002). Esses marcadores foram  
89 usados nos estudos de populações naturais de diversas espécies perenes que ocorrem no  
90 Cerrado brasileiro (Antiqueira, 2013). A partir do desenvolvimento de primers de  
91 microssatélites para mangabeira por Rodrigues *et al.* (2015), deve ampliar os  
92 conhecimentos sobre as populações naturais dessa espécie, a exemplo de Amorim *et al.*  
93 (2015) e do presente trabalho.

94 Em relação à estruturação das populações, além das informações geradas por  
95 marcadores SSR, o uso de marcadores cloroplastidiais pode-se ampliar tais  
96 conhecimentos e possibilitar análises filogeográficas. Diversos marcadores  
97 cloroplastidiais projetados para várias Angiospermas são apropriados para os estudos de  
98 genética de população e filogeografia e (Scarceli *et al.*; 2011).

99 O presente trabalho teve por objetivo estudar a diversidade, estrutura genética e  
100 filogeografia de populações naturais de mangabeira nos Tabuleiros costeiros do  
101 Nordeste do Brasil, utilizando marcadores microssatélites e sequência de DNA de  
102 cloroplasto, *trnH-psbA*.

103

## 104 **Material e Métodos**

### 105 **Área de estudo e amostragem**

106 Foram estudadas quatro populações naturais de *H. speciosa* var. *speciosa*  
107 localizadas ao longo dos Tabuleiros Costeiros nos Estados da Paraíba, Pernambuco,  
108 Sergipe e Maranhão (Tabela 1). Em cada população foram amostrados 24 indivíduos de  
109 modo aleatório e mantida a distância mínima de 100 m entre estes. Cada indivíduo foi  
110 identificado com placas de alumínio e registraram-se as coordenadas geográficas  
111 utilizando o Sistema de Posicionamento Global (GPS). As amostras foram constituídas  
112 de folhas jovens as quais foram mantidas em sacos de papel, acondicionadas em sacos  
113 plásticos e mantidas em isopor com gelo para o transporte até o Laboratório de  
114 Recursos Genéticos da Universidade Federal de Alagoas, onde foram mantidas em  
115 freezer a - 20°C até o momento da extração de DNA.

116

### 117 **Extração de DNA e otimização das regiões de microssatélites**

118 A extração do DNA das amostras foi realizada seguindo o protocolo CTAB  
119 desenvolvido por Doyle e Doyle (1987) com modificações. Foram testados 12 primers  
120 específicos para *H. speciosa* (Tabela 2), desenvolvidos por Rodrigues *et al.* (2015), os

121 quais foram marcados com o fluoróforo FAM. Para a amplificação das regiões de  
122 microssatélites e reações de PCR foi utilizado protocolo com os seguintes componentes  
123 para cada reação de PCR: 5 µl de Tampão buffer (10x); 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>; 5,0 mM dNTP;  
124 0,25 U Taq DNA *polimerase*, 0,5 µM de cada *primer* e 20 ng do DNA, totalizando 50  
125 µl. A amplificação foi realizada com desnaturação inicial a 94°C por 3 min, seguidos de  
126 35 ciclos de 94 °C por 30 s, anelamento 55° - 60 °C por 30 s e extensão final de 72 °C  
127 por 10 min.

128 A eficiência das amplificações foi avaliada por meio da eletroforese em gel de  
129 agarose a 2%, corado com brometo de etídio em potência constante de 70 W durante 60  
130 minutos para separação dos fragmentos amplificados em cada primer, utilizando-se  
131 como marcador o DNA *ladder* de 50 pb e 100 pb (Invitrogen™, São Paulo, Brasil). A  
132 revelação das bandas de microssatélites foi feita em câmera digital e avaliadas em  
133 transluminador para revelação das bandas.

134 Para genotipagem, visando obtenção dos dados populacionais, para cada amostra  
135 foi utilizado 1 µl da reação de PCR, 0,2 uL do marcador LIZ 600 e 8,8 µl de formamida,  
136 totalizando 10 µl por reação. O produto dessa reação foi submetido à desnaturação a 95  
137 °C por 2 min em termociclador e genotipadas em sequenciador automático ABI 3500.

138

### 139 **Análise dos dados microssatélites**

140 A partir dos picos obtidos com os marcadores de microssatélites foram gerados os  
141 dados para serem submetidos aos programas estatísticos e obter os parâmetros  
142 genéticos. Usando o programa GenAlEx versão 6.3 (Peakall e Smouse, 2012) foram  
143 calculados: o número de alelos ( $N_A$ ), riqueza alélica ( $R$ ), heterozigosidade esperada  
144 ( $H_E$ ), heterozigosidade observada ( $H_O$ ), índice de fixação ( $F$ ), número de migrantes por  
145 geração ( $Nm$ ), o índice de diferenciação  $F_{ST}$  para cada população e entre pares de  
146 populações, e a estimativa da variação genética entre e dentro de populações pela  
147 análise da variância molecular (AMOVA).

148 A atribuição de cada indivíduo a uma população, com base no seu genótipo, foi  
149 realizada com o programa Structure 2.3 (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2007;  
150 Hubisz *et al.*, 2009). Cinco simulações independentes foram feitas para cada valor de  
151 número de agrupamento K (1 a 4). Em cada simulação aplicou-se 100 000 iterações  
152 com um descarte inicial ("burn-in") de 50 000 iterações. A análise foi realizada usando  
153 o modelo de ancestralidade com mistura e utilizando frequências alélicas  
154 correlacionadas. O número de agrupamentos foi estimado pelo método  $\Delta K$  conforme  
155 Evanno *et al.* (2005).

### 156 **Obtenção e análise dos dados de cpDNA**

157

158 Foi analisada a região do espaçador intergênico trnH-psbA (Shaw *et al.*, 2007) do  
159 cpDNA para os 96 indivíduos amostrados. As reações da PCR foram conduzidas em  
160 termociclador *BioCycler*, realizadas com um volume de 50  $\mu$ l, contendo 5  $\mu$ l de tampão  
161 de reação; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM dNTP; 1,25 U Taq DNA polimerase 0,5  $\mu$ M de  
162 cada primer e 50 ng do DNA. A amplificação foi realizada com desnaturação inicial a  
163 94°C por 3 min, seguidos de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, anelamento 55°C por 30 s e  
164 extensão de 72 °C por 1 min e extensão final de 72 °C por 10 min. Os produtos da PCR  
165 foram submetidos á eletroforese em gel de agarose a 1% para confirmação da  
166 amplificação.

167 Em seguida, 1  $\mu$ l de cada produto de PCR juntamente com o *BigDye® Terminator*  
168 *v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems®)* e 0,8 mM do primer forward foram  
169 levados ao termociclador. Para isso utilizou-se o seguinte programa: desnaturação a  
170 96°C por 1 min, 25 ciclos de 96°C por 10 s, 50°C por 5 s e 60°C por 4 min. Após reação  
171 de sequenciamento, foi realizada purificação desses produtos com a utilização de etanol,  
172 EDTA, e acetato de sódio. Foram adicionadas 20  $\mu$ l de Hi-Di Formamida em cada  
173 amostra. A eletroforese foi realizada em sequenciador automático ABI 3500 *Genetic*  
174 *Analyzers (Applied Biosystems Inc., Foster City, Ca, USA)*.

175 Para análise dos haplótipos, as sequências foram editadas usando o *software* R (R  
176 Core Team, 2012) e alinhadas com *ClustalW* e *Muscle*. O alinhamento foi conduzido  
177 usando os ajustes padrões e otimização manual quando necessário. As inferências  
178 filogenéticas foram obtidas pelo o modelo GTK usando análise *Bayesiana*. Essa análise  
179 foi realizada usando *Beast* v1.8.0 (Drummond e RambauT, 2007) e a distribuição  
180 posterior foi aproximada usando *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) para 50 milhões  
181 de etapas.

182 O tempo do ancestral mais recente (*Time to the Most Recent Common Ancestor* -  
183 TMRCA) foi calculado assumindo *relaxed molecular clock (uncorrelated lognormal)*.  
184 Os parâmetros *uclid.stdev* e coeficiente de variação foi 1.0 e para calibração usou o fóssil  
185 de duas espécies próximas ao gênero da *Hancornia*, datada de 54 milhões de anos. A  
186 relação genealógica entre os haplótipos foram estimados usando o método *Median-*  
187 *joining*, usando o *software Network* 4.613 (Bandelt *et al.*, 1999).

188 Mensurações de diferenciação populacional ( $G_{ST}$  e  $N_{ST}$ ) foram calculadas usando  
189 *DnaSP* 5.10.01 (Librado e Rozas, 2009), e foi assumido estruturação filogeográfica  
190 quando as estimativas de  $N_{ST}$  foram superiores ao  $G_{ST}$ . Foi realizada análise espacial de  
191 variância molecular usando o *software* SAMOVA (*Spatial Analysis of Molecular*  
192 *Variation*) (Dupanloup *et al.*, 2002). Por esse *software* foi realizada simulação para  
193 identificar grupos de populações (K) que são geograficamente homogêneas e as  
194 simulações que maximizam as diferenças entre os grupos. Assim pode-se obter a  
195 variação entre os grupos ( $F_{CT}$ ), entre as localidades dentro de cada grupo ( $F_{SC}$ ) e entre as  
196 localidades com relação à amostra total ( $F_{ST}$ ). As análise da AMOVA foram conduzidas  
197 com 100000 iterações para  $k = \{2, \dots, 4\}$  grupos.

198 Uma análise de *cluster* foi construída usando “A *Bayesian approach to*  
199 *phylogeographic clustering*”, usando o *software Bayesian Phylogeographic and*  
200 *Ecological Clustering* (BPEC) (Manolopoulou *et al.*, 2011) pelo *software* R (R Core

201 Team, 2012), usando os parâmetros  $ds = 1$ , número máximo de migração = 5, e 50  
202 milhões de etapas em MCMC.

203 A modelagem de nicho ecológico foi realizada usando *software* MAXENT  
204 (Version 3.3.3k; Phillip *et al.*, 2006) e utilizou os nichos climáticos 19 BIOCLIM  
205 disponíveis no banco de dados do *WorldClim* (<http://www.worldclim.org>). Tais  
206 *softwares* consideram dados ambientais de três diferentes períodos: Biolim layers para o  
207 período de 1950-2000 em uma resolução de 30 arc segundos, último máximo glacial  
208 (LGM: ~21 000 years BP); nas condições climáticas em 2,5 arc min de resolução e o  
209 último interglacial (LIG: ~120 000–140 000 years BP); em uma resolução de 30arc  
210 segundos. Os nichos ecológicos foram obtidos por meio de corridas com os parâmetros:  
211 *convergence threshold* (0,00001), *maximum iterations* (500) e padrão (0,5). As figuras  
212 foram produzidas usando o pacote raster implementado no *software* R (R Core Team,  
213 2012).

## 214 **Resultados**

### 215 **Análise dos microssatélites, diversidade genética e índice de fixação.**

216 Dos 12 pares de primers de microssatélites (HS01, HS02, HS04, HS08, HS09,  
217 HS10, HS11, HS13, HS16, HS17, HS18 e HS20) testados (Tabela 2), seis foram  
218 escolhidos para obtenção dos dados (HS01, HS09, HS10, HS13, HS16 e HS20), por  
219 terem apresentados padrões de bandas nítidas e polimórficas. Um total de 68 alelos foi  
220 identificado para os seis locos de microssatélites nos 96 indivíduos de *H. speciosa*  
221 amostrados e, o número de alelos por loco ( $N_A$ ) variou entre quatro (HS16) e 29 (HS01),  
222 com média de 112,33. A frequência de alelos nulos ( $F_{AN}$ ) variou de -0,199 (HS13) e  
223 0,327 (HS01). A heterozigosidade observada ( $H_O$ ) variou de 0,304 (HS10) a 0,883  
224 (HS01) e a heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) variou de 0,525 (HS16) a 0,858 (HS01) e o  
225 índice de fixação para locos ( $F$ ) variou de -0,493 (HS10) a 0,461 (HS09) (Tabela 3).

226 Dos 24 indivíduos amostrados por população, nas análises, a média foi de 23  
227 com variação de 21,83 e 23,67. O número de alelo por locos ( $N_A$ ) nas populações variou  
228 entre 4,83 (Pernambuco) e 6,83 (Maranhão), com média de 6,00 e, a riqueza alélica ( $R$ )  
229 variou de 2,23 (Pernambuco) a 3,09 (Maranhão), com média de 2,80. Verifica-se que a  
230 heterozigosidade média observada ( $H_O$ ) variou de 0,48 (Maranhão) a 0,69  
231 (Pernambuco), a heterozigosidade média esperada ( $H_E$ ) variou de 0,52 (Maranhão) a  
232 0,64 (Sergipe), enquanto a índice de fixação ( $F$ ) variou de -0,25 (Pernambuco) a 0,04  
233 (Maranhão) (Tabela 1). Entretanto, pelo teste T não houve diferença significativa  
234 ( $p>0,05$ ) para médias de  $R$ ,  $H_O$ ,  $H_E$  e  $F$  nas quatro populações.

235 Por meio da análise de variância molecular (AMOVA) verificou-se que 83% da  
236 variância encontra se dentro das populações e 17% entre populações. Os índices de  
237 endogamia dentro de população ( $F_{IS}$ ), entre populações ( $F_{IT}$ ) e de divergência genética  
238 ( $F_{ST}$ ) foram, -0,081, 0,004 e 0,095, respectivamente (Tabela 4).

239 A diversidade de nucleotídeos obtida com base na amplificação do DNA com o  
240 espaçador *trnH-psbA* revelou seis haplótipos (H1-H6) em 96 indivíduos das quatro  
241 populações (Figura 2C). O número de haplótipos por população variou de um (Paraíba)  
242 a três (Sergipe), sendo que H1 foi o mais abundante e compartilhado por três  
243 populações, enquanto os outros cinco foram privados nas quatro populações (Figura  
244 2A). Pela figura 2D observa-se a posição de variação e substituição de nucleotídeos na  
245 sequência estudada. Com dados dos haplótipos foi construída uma árvore filogenética  
246 com base na datação de quatro fósseis de ancestrais mais recentes (Figura 2B)

247

### 248 **Estruturação das populações**

249 A divergência entre as populações ( $F_{ST}$ ) com base nos microssatélites variou de  
250 0,015 (Paraíba x Pernambuco) a 0,142 (Pernambuco x Maranhão) e o número de

251 migrantes ( $Nm$ ) variando de 1,508 (Maranhão x Pernambuco) e 16,907 (Pernambuco x  
252 Paraíba) (Tabela 5).

253 Pela estatística  $\Delta K$  o valor de  $K$  (3) foi o que melhor representou a estrutura  
254 populacional (Figura 5A). Já em relação AMOVA o valor de  $K$  (2) foi o que melhor  
255 representou a estruturação (Figura 5B) e, utilizando estes dados foi gerada estrutura  
256 espacial (Figura 5C). Com base na análise da estrutura das populações, por meio do  
257 Software Pophelper foram formados três clusters (Figura 5D).

258 Análise espacial de variância molecular (SAMOVA) considerando dois grupos  
259 de *H. speciosa* mostrou variação de 89,92% entre grupos, 10,15% dentro das  
260 populações e -0,07% entre populações dentro dos grupos (Tabela 6). O índice de  
261 variação entre as localidade dentro de cada grupo ( $F_{SC}$ ) foi de -0,007, o índice de  
262 variação entre os grupos ( $F_{CT}$ ) foi de 0,899 e o índice de variação entre as localidades  
263 com relação a amostra total ( $F_{ST}$ ) foi de 0,898.

264 Já a estruturação das populações com base nos haplótipos obtida pelo espaçador  
265 *trnH-psbA* para cpDNA proporcionou a formação de dois grupos, um constituído pelas  
266 populações de Sergipe, Pernambuco e Paraíba e outro constituído pela população  
267 Maranhão (Figura 3A). O gradiente corresponde à probabilidade condicional de cada  
268 indivíduo pertencer ao outro grupo é representado na Figura 3B.

269 Com base na modelagem de nicho ecológico, verificou-se expansão do período  
270 Último Interglacial (LIG) para o Último Máximo Glacial (LGM) e retração do LGM  
271 para o presente ao longo do tempo para *H. speciosa* (Figura 4).

272

## 273 **Discussão**

274 A amplificação de fragmentos com bandas nítidas e consistentes de seis pares de  
275 primers de microssatélites possibilitou a utilização desses fragmentos em sequenciador

276 automático para obtenção dos dados populacionais. Os outros seis pares de primers não  
277 foram utilizados por ter apresentado falhas na amplificação das amostras. O número  
278 total de alelos (68), distribuídos nos seis locos para *H. speciosa*. Três dos seis pares de  
279 primers não utilizados por apresentar falhas na amplificação das amostras (HS11, HS17  
280 e HS18) foram inclusos na obtenção de dados populacionais de *H. speciosa* por  
281 Amorim *et al.* (2015), entretanto, os autores não reportam sobre a qualidade dos  
282 mesmos.

283 O número de alelos por locos ( $N_A$ ) e riqueza alélica ( $R$ ) mostrou baixa variação  
284 entre as populações. Os menores valores registrados para a população Pernambuco,  
285 provavelmente devido ao fato dessa população ser a menor e mais antropizada,  
286 principalmente devido a atividades agrícola de subsistência, que pode ter resultado na  
287 perda alelos. Essa população ocorre na Reserva Particular do Patrimônio Natural –  
288 (RPPN - Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe), entretanto, a presença de fruteiras  
289 domesticadas adultas como mangueira, coqueiro, goiabeiras, cajueiro, entre outras, em  
290 maior parte da área de ocorrência de mangabeira, são indícios de que houve ação  
291 antrópica, principalmente antes da criação da RPPN, que se deu em 2000.

292 A heterozigosidade observada ( $H_O$ ) foi superior a heterozigosidade esperada  
293 ( $H_E$ ) nas populações Paraíba e Pernambuco, indicando excesso de heterozigotos em  
294 relação ao Equilíbrio de Hardy & Weinberg. A população de Pernambuco apesar de ter  
295 apresentado os menores valores de  $N_A$  e  $R$ , mostrou excesso de heterozigotos. Como  
296 essa espécie apresenta autoincompatibilidade (Darrault and Schlindwein, 2005), a maior  
297 antropização dessa população pode ter resultado em redução do índice de fixação.

298 Quanto à diversidade genética, com base em  $H_E$ , nas quatro populações os  
299 valores podem ser considerados de médios para altos e não diferiram estatisticamente

300 nas quatro populações. Sendo que nas populações Paraíba e Sergipe foram observados  
301 valores acima da média das quatro populações.

302 Com base em  $H_E$  verifica-se que não houve diferenças na diversidade genética  
303 entre as quatro populações (Tabela 1), os valores foram similares aos obtidos por  
304 Amorim *et al.* (2015) estudando *H. speciosa* com SSR no Nordeste do Brasil, portanto,  
305 estes níveis de diversidade são padrão para a referida espécie.

306 Ressalta-se que a população Paraíba localizada na Reserva Biológica Guaribas,  
307 fundada em 1990, é grande, com maior densidade de plantas em relação às outras quatro  
308 populações, incluindo grande número de indivíduos jovens, evidenciando renovação da  
309 população, fato não evidenciado na população Pernambuco e menos frequente nas  
310 populações Sergipe e Maranhão. Portanto, como a população Paraíba encontra-se em  
311 área preservada, a continuidade dos cuidados inerente às Reservas Biológicas pode  
312 garantir nível importante de diversidade de *H. speciosa* no Nordeste do Brasil. Ressalta-  
313 se ainda que o valor de  $H_E$ , registrado nessa população (0,60) e similar ou superior ao  
314 obtidos por Amorim *et al.* (2015) em diferentes populações no nordeste do Brasil.

315 Pela AMOVA considerando os microssatélite a maior diversidade (83%) ocorreu  
316 dentro de populações, refletindo o baixo grau de diferenciação entre as populações.  
317 Entretanto, considerando a amova de dois grupos formados pelos haplótipos a maior  
318 diversidade foi verificada entre grupos. Isto se deve ao fato de três populações (Sergipe,  
319 Pernambuco e Paraíba) ter formado um único grupo. Considerando as informações de  
320 diversidade geradas pelos microssatélites e pelos haplótipos, em caso de triagem de  
321 genes ou genótipos de interesse, seja com finalidade de pré-melhoramento ou para  
322 constituir ou enriquecer bancos de germoplasma, haverá boa representatividade dando  
323 ênfase à população Maranhão por ter apresentado haplótipos privados e Sergipe por ter  
324 apresentado o maior numero de haplótipos.

325 Em relação ao índice de fixação, os valores negativos observados nas  
326 populações Paraíba, Sergipe e Pernambuco indicam excesso de heterozigotos nas  
327 referidas populações decorrentes das características do sistema reprodutivo da espécie o  
328 qual prevalece a polinização cruzada. A ocorrência de fixação com baixo valor (0,04)  
329 observado na população Maranhão pode estar relacionado as características ecológicas  
330 do local que é bem distinta em relação as outras populações. O Teste T mostrou valores  
331 não significativos a probabilidade de 95% para  $R$ ,  $H_O$ ,  $H_E$  e  $F$ .

332 Os baixos níveis de diferenciação genética ( $F_{ST}$ ) observado entre as populações  
333 Sergipe, Pernambuco e Paraíba com base nos microssatélites (entre 0,015 e 0,026),  
334 sugerem que *H. speciosa* sofre pouca diferenciação ao longo do tempo, já que as  
335 referida populações são bastante separadas. Tais valores corroboram com os dados de  
336 haplótipos que agrupou estas populações. Considerando a população Maranhão com as  
337 outras três, verificam-se valores variando de 0,076 a 0,142 (Tabela 5), e isto pode estar  
338 relacionado com a maior distância geográfica ente elas e/ou as condições climáticas que  
339 é mais homogenia nas populações Sergipe, Pernambuco e Paraíba, quando comparada  
340 com a população Maranhão que se localiza na parte norte da região nordeste.

341 Em relação  $Nm$ , os valores superiores a 1,0 observados para todas as  
342 combinações (entre 1,51 e 16,91), suficientes para evitar diferenciação genética de  
343 acordo com (Elltsrad, 2003; Slatkin e Barton, 1989). Entretanto, estes dados devem ser  
344 visto com ressalva, pois  $Nm$  reflete valor histórico de fluxo gênico e, considerando  
345 distancia física entre as populações estudadas, há tempo não ocorre troca de alelos entre  
346 elas. Os valores de  $Nm$  encontrados corroboram os estudos dos autores Hartl e Clarck  
347 (2010) que afirmam que na condição de equilíbrio de fluxo gênico-deriva, o valor de  
348  $F_{ST}$  diminui quando o número de migrantes aumenta. Ou seja, quanto maior o valor de

349 *Nm* menor é a distância genética, pois o fluxo gênico diminui a divergência genética  
350 entre as populações.

351 Para análise da estrutura das populações por meio dos dados de microssatélites  
352 foi utilizado o número de grupos mais provável pela estatística  $\Delta K$  conforme Evanno *et*  
353 *al.* (2005) que foi  $k = 3$  (Figura 5A). Entretanto, pela análise da amova, o valor de  $K$   
354 que melhor representa a estrutura populacional foi identificado pelo valor máximo de  
355 densidade, que resultou em  $K = 2$  (Figura 5B).

356 Pela análise de variância molecular com base nos dados de cpDNA, também foi  
357 possível identificar dois grupos populacionais, para os quais houve alto nível de  
358 diferenciação genética e baixa variação dentro de populações. Portanto, os dados de  
359 DNA nuclear e de cpDNA são concordantes, considerando o agrupamento pela amova.  
360 Esses resultados corroboram com a análise Bayesian approach to phylogeographic  
361 clustering (BPEC) que gerou dois clusters distintos (Figura 3A). Isto pode ser explicado  
362 devido ao fato das populações da Paraíba, Pernambuco e Sergipe compartilharem um  
363 mesmo haplótipo e por isso pertencerem ao mesmo grupo, e a população do Maranhão  
364 formar outro cluster, por não compartilhar nenhum dos haplótipos com as demais  
365 populações. A análise de probabilidade confirmou essa formação de dois clusters  
366 distintos, apresentando alta diferença de gradiente, com baixa probabilidade dos  
367 indivíduos de um grupo de *H. speciosa* pertencer a outro (Figura 3B).

368 Para modelagem de nicho ecológico verificou-se um processo de expansão (LIG  
369 para LGM) e retração (LGM para o presente) da distribuição de *H. speciosa* ao longo do  
370 tempo. Comparando as predições, observou diminuição da distribuição de *H. speciosa*  
371 no tempo presente com redução significativa do nicho ecológico, evidenciando perda  
372 das áreas de ocorrência da espécie. De acordo com os resultados obtidos, deve continuar  
373 ocorrendo redução das áreas de ocorrência de *H. speciosa*, assim como prever  
374 Magalhães (2013). Diante de tal previsão e considerando a potencialidade e grande

375 importância econômica e social dessa espécie justifica somar esforços visando definir  
376 novas áreas de conservação e estabelecimentos de estratégias de conservação e dos  
377 recursos genéticos de mangabeira.

378

### 379 **Conclusões**

380 Dados de DNA nuclear e de cpDNA convergiram para elucidar a estruturação de  
381 populações de *H. speciosa* no Nordeste do Brasil.

382 Os resultados das análises das populações revelaram moderada diversidade genética,  
383 com maior diversidade dentro das populações.

384 *Hancornia speciosa* apresenta estruturação filogeográfica com dois grandes grupos  
385 distribuídos no Nordeste brasileiro (Grupo A: Maranhão e Grupo B: Paraíba,  
386 Pernambuco e Sergipe).

387 Os resultados obtidos para *H. speciosa*, possibilitam utilizar essas populações tanto para  
388 coleta de germoplasma visando à conservação *ex situ* quanto para conservação *in situ*,  
389 bem como em programas de melhoramento genético da espécie.

**390 Agradecimentos**

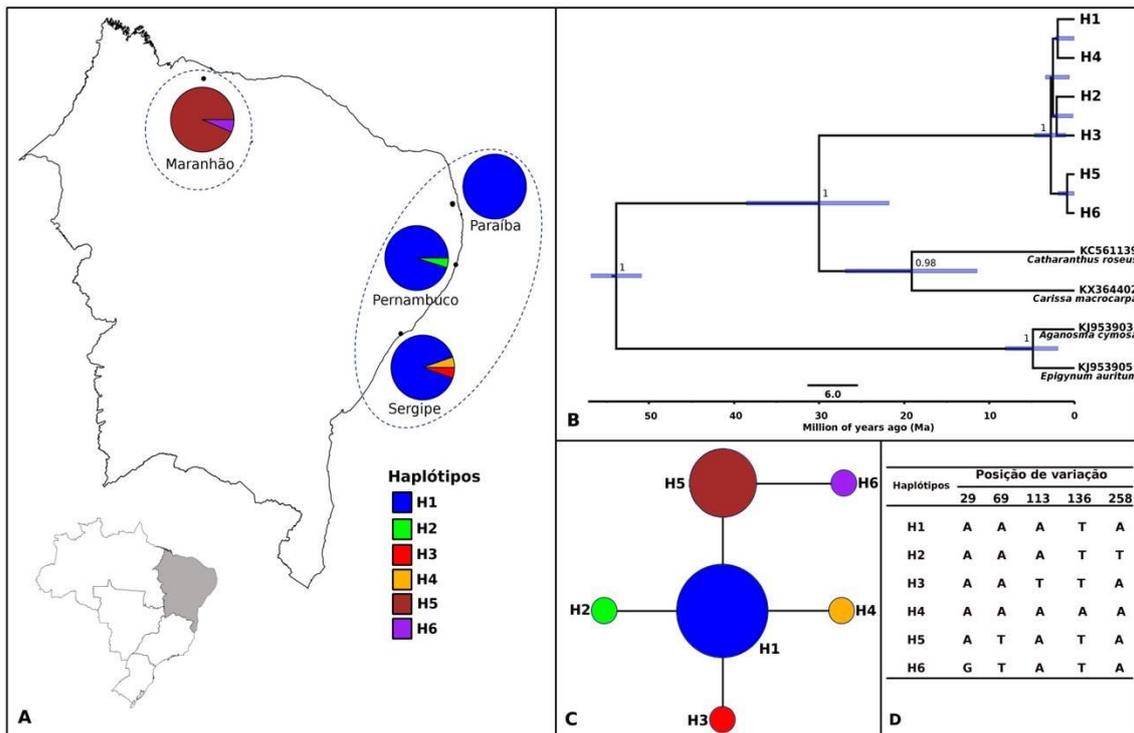
391 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo  
392 suporte financeiro para a pesquisa por meio do edital – MCTI/CNPq No 14/2013 -  
393 processo 484847/2013-9.

**394 Referências**

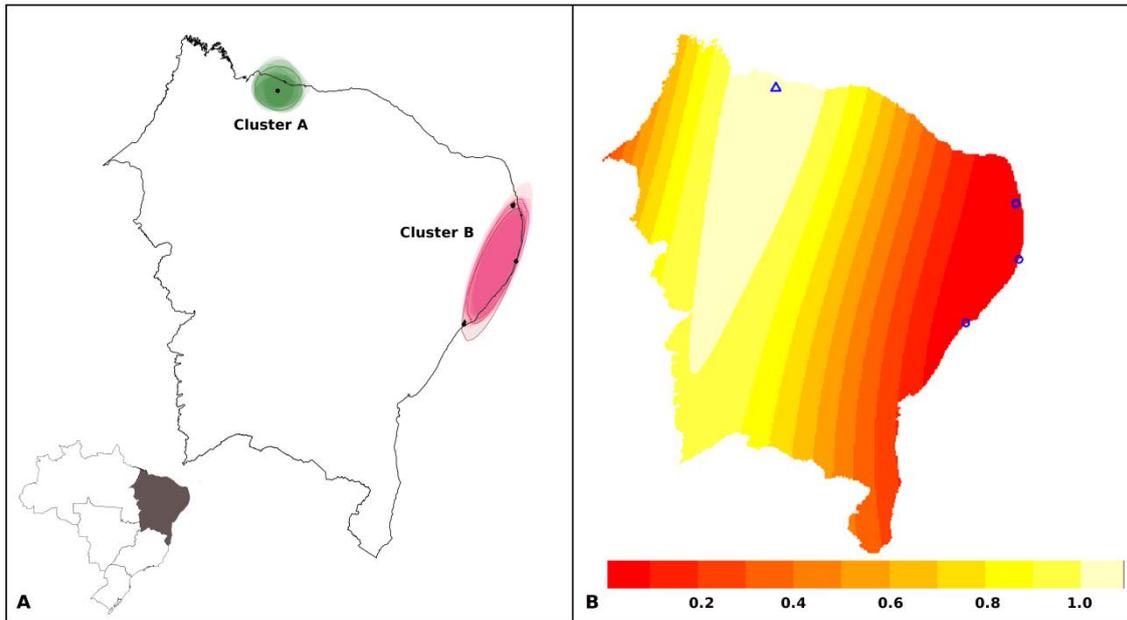
- 395  
396 Aguiar filho SP, Bosco J and Araújo I (1998) A mangabeira (*Hancornia speciosa*  
397 Gomes) - Domesticação e técnicas de cultivo. Documentos 24. EMEPA-PB, João  
398 Pessoa, 26 pp.  
399  
400 Amorim JAE, Mata LR, Lédo AS, Azevedo VCR and Silva AVC (2015) Diversity and  
401 genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. *Genet Mol*  
402 *Res* 14:823-833.  
403  
404 Antikeira LMOR (2013) Application of microsatellite molecular markers in studies of  
405 genetic diversity and conservation of plant species of Cerrado. *J Plant Sci* 1:1-5.  
406 doi: 10.11648/j.jps.20130101.11  
407  
408 Bandelt HJ, Forster P and Rohlf A (1999) Median-joining networks for inferring  
409 intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16:37-48.  
410  
411 Chung MY, Chung GM, Chung MG and Epperson B (1998) Spatial genetic structure in  
412 populations of *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae). *Genes Genet Systems* 73:281-  
413 285.  
414  
415 Doyle JJ and Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of  
416 fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.  
417  
418 Darrault RO and Schlindwein C (2005) Limited fruit production in *Hancornia speciosa*  
419 (*Apocynaceae*) and pollination by nocturnal and diurnal insects. *Biotropica*  
420 37:381-388, 2005  
421  
422 Dupanloup I, Schneider S and Excoffier L (2002) A simulated annealing approach to  
423 define the genetic structure of populations. *Mol Ecol* 11:2571-2581.  
424  
425 Drummond AJ and Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by  
426 sampling trees. *BMC Evol Biol* 7:1-214.  
427  
428 Ellstrand NC (2003) Current knowledge of gene flow in plants: implications for  
429 transgene flow. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:1163-1170.  
430  
431 Evanno G, Regnaut S and Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of  
432 individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*  
433 14:2611-2620.  
434  
435 Epperson BK (1992) Estrutura espacial da variação genética dentro das populações de  
436 árvores florestais. *New Forest* 6:257-278.

- 437  
438 Falush D, Stephens M and Pritchard JK (2007) Inference of population structure using  
439 multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes*  
440 7:574-578.  
441
- 442 Ganga RMD, Ferreira GA, Chaves LJ, Naves RV and Nascimento JL (2010)  
443 Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa*  
444 Gomes do cerrado. *Revis Bras Frutic* 32:101-113.  
445
- 446 Gemayel R, Cho J, Boeynaems S and Verstrepen KJ (2012) Beyond Junk-Variable  
447 Tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding  
448 sequences. *Genes* 3:461-480.  
449
- 450 Hartl DL and Clark AG (2010) *Princípios de Genética de Populações*. 4ª edição.  
451 Artmed, Porto Alegre, 660 pp.  
452
- 453 Hosbino AA, Palmieri DA, Bravo JP, Pereira TEB, Lopes CR and Gimemes MA (2002)  
454 Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. *Revista*  
455 *Biociencia*, *cienc desenvolv* 29:146-150.  
456
- 457 Hubisz MJ, Falush D, Stephens M and Pritchard JK (2009) Inferring weak population  
458 structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour*  
459 9:1322-1332.  
460
- 461 Lederman IE, Júnior JFS, Bezerra JEF and Espíndola ACM (2000) Mangaba  
462 (*Hancornia speciosa* Gomes). *Série Frutas Nativas*, 2. Funep, Jaboticabal, 35 pp.  
463
- 464 Librado P and Rozas J (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of  
465 DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.  
466
- 467 Lorenzi H (1998) *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas*  
468 *arbóreas nativas do Brasil*. 2. ed. Plantarum, Nova Odessa, 352 pp.  
469
- 470 Magalhães M (2013) Avaliação do impacto das mudanças climáticas na distribuição  
471 geográfica e na produtividade sustentável de *Hancornia speciosa* Gomes  
472 (*Apocynaceae*)-mangaba nos municípios brasileiros. Dissertação (Mestrado em  
473 Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente-Centro Universitário de Anápolis–  
474 UniEvangélica), Anápolis, 75pp.  
475
- 476 Manolopoulou I, Legarreta L, Emerson BC, Brooks S and Tavaré S (2011) A Bayesian  
477 approach to phylogeographic clustering. *Interface Focus* 1:909-921.  
478
- 479 Monachino J (1945) A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). *Lilloa* 11:19-48.  
480
- 481 Peakall R and Smouse (2012) GenAlEx 6.5: análise genética no Excel. Software  
482 genético populacional para ensino e pesquisa - uma atualização. *Bioinformática*,  
483 28:2537-2539.  
484
- 485 Pinheiro E and Pinheiro FSV (2006) Produção de borracha. In: Silva Junior JF and Léo  
486 AS. *A cultura da mangaba*. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracajú, pp 233-245.  
487

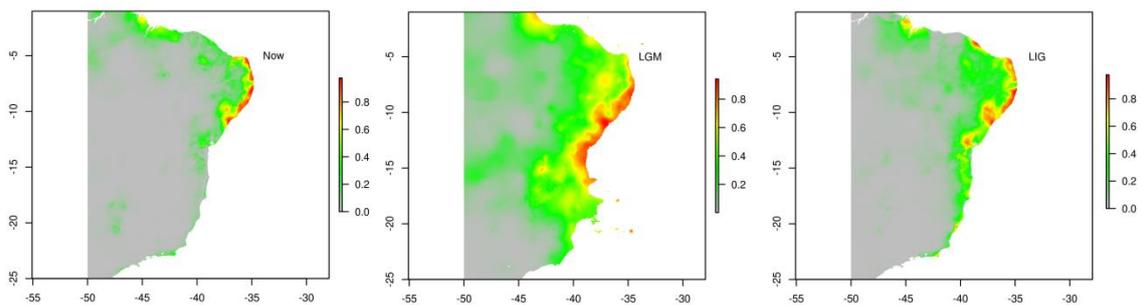
- 488 Phillips SJ, Anderson RP and Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of  
489 species geographic distributions. *Ecol Model* 190:231-259.  
490
- 491 Prado OQ (2000) Descrição del Bosque de “El Tumbador” (Puerto Suárez, Bolívia).  
492 In: Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal. Anais...  
493 Corumbá: Embrapa Pantanal. Disponível em CD-ROM, Seção Aspectos Bióticos.  
494
- 495 Pritchard JK, Stephens M and Donnelly P (2000) Inference of population structure  
496 using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.  
497
- 498 R Core Team (2012) R: a language and environment for statistical computing. R Foun-  
499 dation for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN: 3-900051-0R-  
500 project.org/.  
501
- 502 Rodrigues AJL, Yamaguishi AT, Chaves LJ, Coelho ASG, Lima JS and Telles MPC  
503 (2015) Development of microsatellite markers for *Hancornia speciosa* Gomes  
504 (Apocynaceae). *Genet Mol Res* 14:7274-7278.  
505
- 506 Scarcelli N, Barnaud A, Eiserhardt W, Treier UA, Seveno M, d’Anfray A, Vigouroux  
507 Y, Pintaud JC (2011) Set of 100 chloroplast DNA primer pairs to study population  
508 genetics and phylogeny in monocotyledons. *PLoS One* 6:e19954.  
509
- 510 Shaw J, Lickey E, Schilling E and Small R (2007) Comparison of whole chloroplast  
511 genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in  
512 Angiosperms: The tortoise and the hare III. *Am J Bot* 94:275-288.  
513
- 514 Silva Júnior JF, Araujo IA, Barreiro Neto M, Espíndola ACM, Carvalho NSG and Mota  
515 DM (2006) Recursos genéticos nos Tabuleiros Costeiros e baixada litorânea do  
516 Nordeste. In: Silva Júnior JF and Léo AS (eds) A cultura da mangaba. Embrapa  
517 Tabuleiros Costeiros, Aracajú, pp 57-74.  
518
- 519 Silva Júnior JF, Mota DM and Schmitz H (2011) No rastro da mangabeira. In: Mota  
520 DM, Silva Júnior JF, Schmitz H and Rodrigues RFA (eds) A mangabeira, as  
521 catadoras, o extrativismo. Embrapa, Belém, pp 45-76.  
522
- 523 Slatkin M and Barton NH (1989) A comparison of three methods for estimating average  
524 levels of gene flow. *Evolution* 43:1349-1368.  
525
- 526 Soares FP, Paiva R, Nogueira RC, Oliveira LM, Silva DRG and Paiva PDO (2004)  
527 Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). *Boletim Agropecuário*, 67.  
528 Lavras, 12 pp.  
529
- 530 Vieira Neto RD, Cintra FLD, Silva AL, Silva Júnior JF, Costa JLS, Silva AAG and  
531 Cuenca MAG (2002) Sistema de produção de mangaba para os tabuleiros  
532 costeiros e baixada litorânea. *Sistemas de Produção*, 2. Embrapa Tabuleiros  
533 Costeiros, Aracajú, 22 pp.  
534
- 535 Vieira Neto RD (1994) Cultura da mangabeira. Circular técnica, 2. Embrapa Tabuleiros  
536 Costeiros-CPATC, Aracajú, 16 pp.  
537
- 538 Vieira Neto RD (1998) Efeito de diferentes substratos na formação de mudas de  
539 mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). *Rev Bras Frutic* 20:265-271.



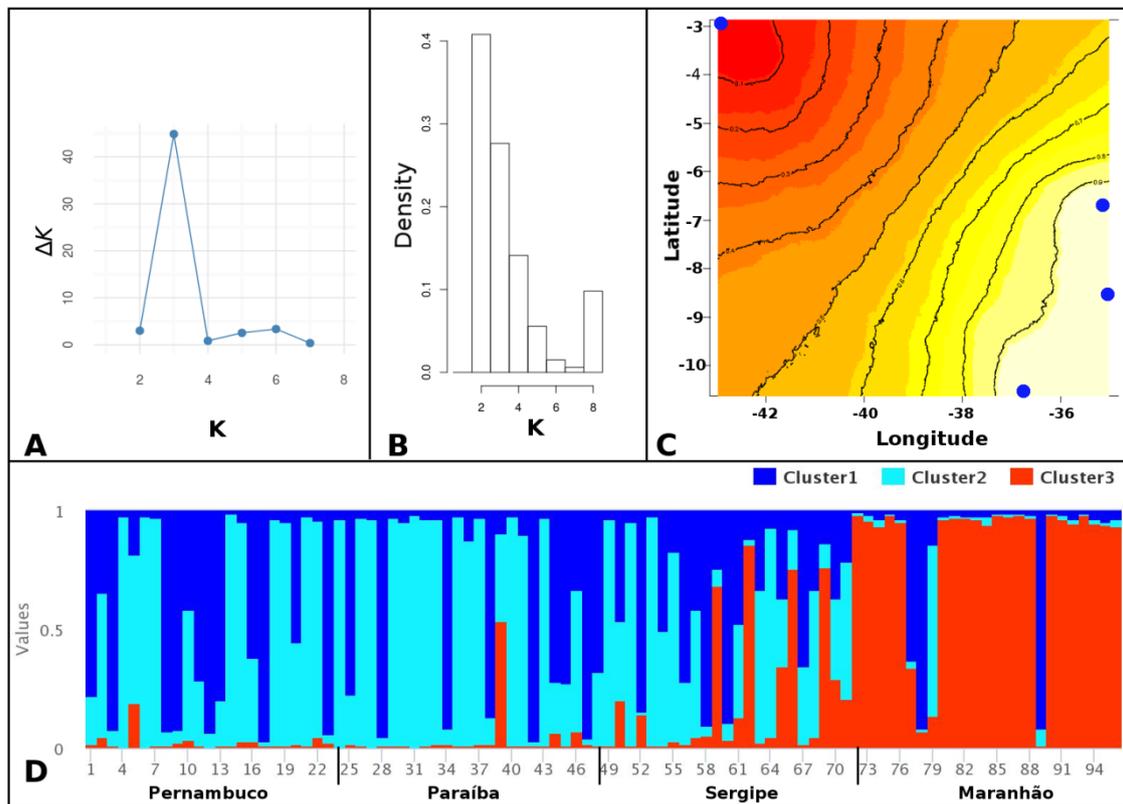
**Figura 2.** Padrões da distribuição e frequência dos hapótipos de *H. speciosa* nas áreas estudadas para região plastidial *trnH-psbA* por locais de estudo (A). Distribuição dos clados na árvore filogenética (B). Rede de haplótipos obtidos pelo software NETWORK (C). Número de haplótipos, posição de variação e substituição de nucleotídeos encontrada na sequência (D).



**Figura 3.** A Análise de cluster foi construída usando Bayesian approach to phylogeographic clustering (BPEC) (A). Previsão de ocorrência de cada indivíduo de *H. speciosa*. O gradiente corresponde à probabilidade condicional de cada indivíduo pertencer ao outro grupo (os valores variam no intervalo de 0 a 1,0). O triângulo indica amostras de um grupo, e os círculos indicam amostras de um segundo grupo, sendo cada ícone correspondente a um local de coleta (B).



**Figura 4.** Potencial distribuição como probabilidade de ocorrência de *H. speciosa* para o presente (Now, 0 years BP), Last Glacial Maximum (LGM, 21000 years BP) e Last Interglacial (LIG, 120000-140000 years BP).



**Figura 5.** Gráfico do valor de K pelo método  $\Delta K$  (A). Gráfico do valor de K pelo método SAMOVA (B). Diferenciação ou semelhança das populações de acordo com sua localização (C). Análise da estrutura das populações (D).

**Tabela 1.** Informação dos locais amostrados, diversidade e índice de fixação em relação aos seis locos microsatélites analisados para quatro populações de *H. speciosa*.

Informação dos locais de coleta			Diversidade de microsatélites					
População	Local de coleta	Coordenadas geográficas	$N$	$N_A$	$R$	$H_O$	$H_E$	$F$
Paraíba	Reserva Biológica de Guaribas (Município de Mamanguape - PB)	06°40'00,4"S/35°06'57,7"W	23,00	6,00	2,88(NS)	0,67(NS)	0,60(NS)	-0,10(NS)
Pernambuco	Mata do Oiteiro (Município de Ipojuca - PE)	08°31'30,8"S/35°01'20,1"W	23,67	4,83	2,23(NS)	0,69(NS)	0,53(NS)	-0,25(NS)
Sergipe	Comunidade de São Sebastião (Município de Pirambú -SE)	10°36'41,0"S/36°45'00,3"W	23,33	6,33	3,04(NS)	0,64(NS)	0,64(NS)	-0,01(NS)
Maranhão	Povoado das mangabas (Município de Barreirinhas - MA)	02°52'43,6"S/42°56'34,0"W	21,83	6,83	3,09(NS)	0,48(NS)	0,52(NS)	0,04(NS)
Média			23,00	6,00	2,80	0,62	0,57	-0,08

$N$  = tamanho da amostral,  $N_A$  = número de alelos,  $R$  = riqueza alélica,  $H_O$  = heterozigosidade observada,  $H_E$  = heterozigosidade esperada,  $F$  = índice de fixação e NS= não significativo a 95% de probabilidade.

**Tabela 2.** Relação dos primers, Temperatura de anelamento (Ta), tamanho do fragmento (Tam. do frag.), sequências, e fluorescência (F) dos microssatélites utilizados para estudo de diversidade genética de populações de *H. speciosa*.

Primers	Ta	Tam. do frag.	Sequências	F
<u>HS01</u>	50	250-310	F: GTGTCTTCCATCCGAGCTTAAC R: TTCCCAGAAAGGAGAGGTACA	FAM
HS02	48	80-150	F: AATTCAACCCTTCTGCGAATC R: CACCAGGAACGATCAGGAAG	FAM
HS04	49	80-200	F: GCGAGTCGAATTCCAATTACTC R: AAAGTCCAGTAATAGCGCCAAA	FAM
HS08	50	200-250	F: AATGTAGAGGTGAACGAGTGGG R: TACACCCTGCTCATCGTTTATG	FAM
<u>HS09</u>	48	200-300	F: TGCAAACCCTCGTTTATTTCTT R: ATTGTGTGTGTTGTGTGTGGG	FAM
<u>HS10</u>	50	100-200	F: ACAAATCAATGAGGAGGTGCTT R: TAACTATGTGCAACCGCAAGAC	FAM
HS11	49	100-200	F: GTGATATTTCTGTGCTCTCCAAG R: CTCTGCCACTGTGCAACC	FAM
<u>HS13</u>	50	100-150	F: CTGGGGTACTTCAGCAAATCAC R: CATCAAAGACCGTTGTCTCCTT	FAM
<u>HS16</u>	51	100-150	F: CGTTGGTAGCGGCTGTATTAAG R: CCCCTCCTGCCACTCTCT	FAM
HS17	50	100-200	F: ACTCGAGCAGAAGAAGCAAATC R: ACACACCCTCATCAGCCC	FAM
HS18	51	300-350	F: ATTCATGCTCCACTGGCTTC R: GACCACAGCTAGTGACGTGTTC	FAM
<u>HS20</u>	48	200-250	F: CTAACCCACTACAACCTCTGGGC R: ATCCGATTTAGGACATTGGGT	FAM

**Tabela 3.** Número de indivíduos ( $N$ ), número de alelos ( $N_A$ ), frequência de alelos nulos ( $FAN$ ) heterozigosidade observada ( $H_O$ ), heterozigosidade esperada ( $H_E$ ), índice de fixação ( $F$ ), Equilíbrio de Hardy-Weinberg (E.H.W) diferenciação genética ( $F_{ST}$ ) e  $G_{ST}$  em relação aos cinco locos avaliados para *H. speciosa*.

Locos	$N$	$N_A$	$FAN$	$H_O$	$H_E$	$F$	E.H.W	
HS01	94	29	0,327	0,883	0,858	0,035	0	
HS09	91	15	-0,025	0,396	0,694	0,461	0	
HS10	92	6	-0,190	0,304	0,601	-0,493	0	$F_{ST}$ 0,177
HS13	96	5	-0,199	0,542	0,547	0,023	0,162	$G_{ST}$ 0,094
HS16	85	4	-0,035	0,753	0,525	0,288	0	
HS20	93	9	0,287	0,849	0,597	0,204	0	
<b>Médias</b>	91,83	11,33	0,027	0,612	0,604	0,086	0,027	

**Tabela 4.** Análise de Variância molecular (AMOVA) de 6 locos para as quatro populações de *H. speciosa*.

Fontes de Variação	GL	Variância (%)	
Entre populações	3	17%	$F_{IS}$ -0,081
Dentro de populações	92	83%	$F_{IT}$ 0,004
			$F_{ST}$ 0,095
<b>Total</b>	95	100%	

**Tabela 5.** Matriz de divergência genética -  $F_{ST}$  (diagonal superior),  $Nm$  - Número de migrantes (diagonal inferior) em relação aos pares de populações de *H. speciosa*.

Populações	Paraíba	Pernambuco	Sergipe	Maranhão
<b>Paraíba</b>		0,015	0,021	0,116
<b>Pernambuco</b>	16,907		0,026	0,142
<b>Sergipe</b>	11,873	9,385		0,076
<b>Maranhão</b>	1,908	1,508	3,019	

**Tabela 6.** Análise de Variância molecular (SAMOVA) para dados de cpDNA de *H. speciosa*.

Fonte de variação	D.F	% de variação	
Entre grupos	1	89,92	$F_{CT}$ 0,8992
Entre populações dentro dos grupos	2	-0,07	$F_{SC}$ -0,0072
Dentro das populações	67	10,15	$F_{ST}$ 0,8985
<b>Total</b>	<b>70</b>		

**Tabela complementar.** Coordenadas geográficas de cada indivíduo das quatro populações de *H. speciosa*.

Indivíduos	Populações			
	Paraíba	Pernambuco	Sergipe	Maranhão
1	06°40'00,4''S e 035°06'57,7''W	08°31'30,8''S e 035°01'20,1''W	10°36'41,0''S e 036°45'00,3''W	02°52'43,6''S e 042°56'34,0''W
2	06°40'04,9''S e 035°06'55,7''W	08°31'35,6''S e 035°01'16,7''W	10°36'43,3''S e 036°44'57,4''W	02°52'58,3''S e 042°56'59,6''W
3	06°40'04,4''S e 035°06'54,5''W	08°31'38,0''S e 035°01'13,9''W	10°36'41,7''S e 036°44'54,5''W	02°52'46,2''S e 042°56'67,0''W
4	06°40'07,9''S e 035°06'52,8''W	08°31'42,7''S e 035°01'05,2''W	10°36'44,5''S e 036°44'51,7''W	02°52'49,4''S e 042°56'79,0''W
5	06°40'07,8''S e 035°06'55,6''W	08°31'40,9''S e 035°01'02,8''W	10°36'46,5''S e 036°44'50,5''W	02°52'57,4''S e 042°56'80,0''W
6	06°40'09,2''S e 035°06'56,5''W	08°31'45,8''S e 035°01'03,3''W	10°36'49,9''S e 036°44'46,0''W	02°52'68,0''S e 042°56'79,5''W
7	06°40'10,9''S e 035°06'57,9''W	08°31'32,7''S e 035°01'15,8''W	10°36'48,6''S e 036°44'43,8''W	02°52'86,3''S e 042°56'84,1''W
8	06°40'13,8''S e 035°06'57,1''W	08°31'20,9''S e 035°01'10,7''W	10°36'52,0''S e 036°44'45,5''W	02°52'94,5''S e 042°56'72,7''W
9				

<b>Populações</b>				
	06°40'16,5''S e 035°07'55,3''W	08°31'21,2''S e 035°01'06,8''W	10°36'49,7''S e 036°44'48,7''W	02°52'88,8''S e 042°56'59,0''W
10	06°40'16,8''S e 035°07'57,7''W	08°31'23,6''S e 0,35°01'06,4''W	10°36'48,2''S e 036°44'51,9''W	02°52'79,9''S e 042°56'51,5''W
11	06°40'14,4''S e 035°07'58,8''W	08°31'26,1''S e 0,35°01'03,2''W	10°36'51,1''S e 036°44'51,8''W	02°52'74,4''S e 042°56'41,0''W
12	06°40'12,4''S e 035°06'57,6''W	08°31'28,0''S e 035°01'03,7''W	10°36'50,0''S e 036°44'55,9''W	02°52'88,4''S e 042°56'89,0''W
13	06°40'12,7''S e 035°06'52,5''W	08°31'31,6''S e 035°01'02,1''W	10°36'48,3''S e 036°44'59,9''W	02°52'79,5''S e 042°56'97,6''W
14	06°40'09,9''S e 035°06'52,4''W	08°31'28,9''S e 035°01'01,6''W	10°36'49,2''S e 036°45'04,9''W	02°52'70,2''S e 042°57'06,8''W
15	06°41'26,8''S e 035°06'57,5''W	08°31'26''S e 035°01'01''W	10°36'45,2''S e 036°45'06,1''W	02°52'80,8''S e 042°57'12,1''W
16	06°41'23,4''S e 035°06'58,7''W	08°31'07,23''S e 035°01'02''W	10°36'45,3''S e 036°45'01,0''W	02°52'84,7''S e 042°56'92,4''W
17	06°41'19,2''S e 035°06'57,5''W	08°31'21''S e 035°01'02''W	10°36'41,1''S e 036°44'03,2''W	02°52'87,4''S e 042°56'95,9''W
18	06°41'19,4''S e 035°07'03,0''W	08°31'19''S e 035°01'01''W	10°36'15,2''S e 036°44'52,4''W	02°52'98,5''S e 042°56'80,6''W
19	06°41'27,2''S e 035°07'02,7''W	08°31'20''S e 0,35°01'05''W	10°36'18,9''S e 036°44'50,4''W	02°53'06,6''S e 042°56'81,6''W
20	06°41'33,0''S e 035°07'00,5''W	08°31'20''S e 035°01'08''W	10°36'23,7''S e 036°44'49,0''W	02°53'19,1''S e 042°56'82,7''W
21	06°42'13,5''S e 035°07'06,7''W	08°31'16''S e 035°01'10''W	10°36'26,2''S e 036°44'44,6''W	02°53'18,7''S e 042°56'91,5''W
22	06°42'21,2''S e 035°07'06,4''W	08°31'14''S e 035°01'14''W	10°36'26,5''S e 036°44'40,1''W	02°53'06,1''S e 042°57'05,4''W
23	06°42'25,9''S e 035°07'07,7''W	08°31'08''S e 035°01'14''W	10°36'26,9''S e 036°44'35,0''W	02°53'02,1''S e 042°56'98,5''W
24	06°42'27,5''S e 035°07'13,7''W	08°31'08''S e 035°01'19''W	10°36'29,9''S e 036°44'32,0''W	02°53'35,4''S e 042°57'58,8''W