

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOLOGIA MOLECULAR**



**Diversidade genética em espécies de *Poincianella* da
Caatinga com base em marcadores microssatélites**

ISABELA SANTOS BARBOSA

ILHÉUS – BAHIA – BRASIL

Agosto de 2013

ISABELA SANTOS BARBOSA

**Diversidade genética em espécies de *Poincianella* da
Caatinga com base em marcadores microssatélites**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Santa Cruz como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: Genética e
Biologia Molecular

ILHÉUS – BAHIA – BRASIL

Agosto de 2013

ISABELA SANTOS BARBOSA

**Diversidade genética em espécies de *Poincianella* da
Caatinga com base em marcadores microssatélites**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: Genética e Biologia Molecular.

APROVADA: 30 de Agosto de 2013

Prof. Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima
(EMBRAPA/MEIO NORTE-PI)

Prof. Dr. Roberto Tarazi
(UESC)

Prof.^a Dra. Norma Eliane Pereira
(UESC)

Prof. Dr. Ronan Xavier Corrêa
(UESC – Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Zilma e Barbosa, por acreditarem em mim e nunca medirem esforços para que eu pudesse acrescentar força e coragem na realização dos meus sonhos. Ao meu irmão, Felipe, por ser um grande companheiro e amigo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

“Quem ama nunca desiste, porém suporta tudo com fé, esperança e paciência” (I Co 13.7).

Primeiramente agradeço a DEUS, pela bênção de amanhecer todos os dias com saúde e dar-me força e coragem para que consiga alcançar meus ideais; contigo, eu sempre sigo.

Aos meus queridos avós, José Viana (Vô Zeca), Maria Isabel (*in memorian*), Geni Nascimento e José Costa (*in memorian*). Se hoje estou aqui e tenho uma linda família, devo a vocês.

Aos queridos avós de coração, Lauro Alves (*in memorian*), Maria de Lourdes Veras, Raimunda Barbosa, Maria de Lourdes Frazão e Denise Frazão, pelo carinho e dedicação destinados à minha mãe e meu pai.

Aos meus amados pais, José Julião Barbosa e Zilma Barbosa, por terem me tornado a pessoa que hoje sou graças aos seus fantásticos exemplos de vida e por me ensinarem a trilhar o caminho do amor, da sabedoria e da honestidade. Obrigada pelo incentivo e por sempre acreditarem em mim. Vocês são a razão e a causa de todas as minhas vitórias. Meus heróis!

Agradeço ao meu irmão, Felipe Santos, o maior presente que meus pais poderiam me ofertar. Meu porto seguro, meu melhor sorriso, minha melhor companhia.

Agradeço à minha cunhada, Brena Luzia, bem como à sua família, por terem acolhido a minha família de coração e braços abertos. Obrigada por tudo.

A todos os meus familiares. “Família... é quem você escolhe pra viver... não precisa ter conta sanguínea, é preciso ter sempre um pouco mais de sintonia” (ORP).

À Universidade Estadual de Santa Cruz, pela oportunidade e por ser mais um degrau para a minha qualificação.

Ao meu orientador, Prof Ronan Xavier Corrêa, que foi fundamental para a realização do presente trabalho. Obrigada pela paciência, confiança, dedicação e incentivo para comigo. O senhor conseguiu extrair o melhor da minha força de vontade. Obrigada por todo o apoio e inspiração profissional..

À Prof^a Fernanda Amato Gaiotto, pelo seu exemplo de ética e constante paciência quando me orientou nos meus primeiros passos na Genética de populações. É contagiante ver o seu amor e dedicação pela área.

A todos os professores do Programa de Genética e Biologia Molecular, pelos novos conhecimentos a cada aula e até pelas conversas descontraídas na salinha de almoço. Sinto-me realizada quando olho para trás e percebo a qualidade desse grande time de pesquisadores que só favorece o nosso desenvolvimento acadêmico.

Aos amigos do laboratório de Marcadores Moleculares, por tornarem o ambiente de trabalho mais leve e feliz, em especial a querida Dani Bitencourt. Obrigada pela paciência, pela grande ajuda com as análises de paternidade, com os mapas... obrigada pela amizade. “Amiii, você é top!”

Ao Luquinhas e a Sanlai pela ajuda e orientação com as análises de diversidade. Vocês foram muito importantes nesse momento.

A minha amiga irmã, Eullaysa, que caminhamos juntas desde o começo do mestrado e que a convivência só aumentou as afinidades e nos presenteou com uma bela amizade. Que bom que você entrou no barco comigo. rsrs

A Elaini, que com sua experiência laboratorial e de vida, me fez amadurecer bastante. Obrigada, amiga! Pelas conversas, puxões de orelha e muitos momentos de descontração, principalmente na fase mais “tensa”. rsrs

Aos amigos do LBF, que foram os primeiros a me receberem de braços abertos na Uesc. Em especial, Rose, Evelyn, Tati e Gabi.

Aos amigos proteômicos, genômicos, biotecnológicos, citogenéticos e da cultura de tecidos...o Centro de Biotecnologia e Genética(CBG) não seria o mesmo sem vocês! Um ambiente amigável e o trabalho em equipe favorecem o crescimento profissional e pessoal.

Aos “Bonequinho(a)s” que tornaram meus dias mais felizes e me deram uma família de amigos para todas as horas, principalmente para as sextas - feiras no Téo. rsrs

Aos Get's, em especial os bests, Jéssica, Flavinha, Everton, que há anos me dão a tranquilidade de uma amizade pra vida inteira. Obrigada por estarem comigo mesmo a distância.

Agradeço aos amigos e amigas que são especiais pelo simples fato de existirem. Impossível citá-los, para não arriscar esquecer alguém, mas posso descrevê-los em uma única palavra: Fundamentais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro do projeto (Processo n. 473393/2007-7) e pela concessão da bolsa de mestrado à autora.

Obrigada por tudo e a todos!

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.”

Guimarães Rosa - Grande Sertão: Veredas

ÍNDICE

EXTRATO.....	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Caracterização da Caatinga e das espécies em estudo	5
2.1.1 Biodiversidade da Caatinga	5
2.1.2 Aspectos morfológicos e biologia das espécies	7
2.1.3 Diversidade de habitat, curiosidades e importância sócio econômica	9
2.1.4 Estudos taxonômicos e citogenéticos	12
2.2 Parâmetros de diversidade em <i>Caesalpinia</i>	13
3. RESULTADOS	16
Diversidade genética de espécies de <i>Poincianella</i> e paternidade em <i>P. pyramidalis</i> com base em microssatélites	16
Resumo	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e Métodos	20
Resultados	25
Discussões	29
Conclusões.....	30
Referências.....	31
4. CONCLUSÕES GERAIS.....	34
5. REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES.....	35

EXTRATO

BARBOSA, Isabela Santos, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Agosto de 2013. **Diversidade genética em espécies de *Poincianella* da Caatinga com base em marcadores microssatélites.** Orientador: Ronan Xavier Corrêa. Colaboradora. Fernanda Amato Gaiotto.

A Caatinga é um Bioma genuinamente brasileiro que possui grande riqueza na sua biodiversidade. Nos últimos anos, tem havido desmatamentos de forma acelerada nessas áreas, especialmente, devido ao consumo de lenha nativa (explorada de forma ilegal e insustentável) e à conversão para pastagem e agricultura. Mesmo assim, ainda há grande número de espécies, bem como remanescentes preservados de vegetação, contendo táxons raros e endêmicos. No entanto, há escassez de estudos que se refiram aos mecanismos ecológicos, morfológicos e estruturais, que atuam sobre a variabilidade genética da maioria das espécies vegetais. Neste trabalho, marcadores microssatélites de *Caesalpinia echinata* Lam. foram utilizados para analisar a diversidade genética de quatro espécies de *Poincianella* Britton & Rose que foram realocadas em combinações novas como *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz, *P. laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz., *P. pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz e *P. microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz. Para *P. pyramidalis*, três famílias obtidas por coleta de sementes com identificação de procedência foram analisadas, para determinação de paternidade. As amostras de folhas utilizadas são provenientes de Bom Jesus da Lapa, Brumado, Iguaçu e Xique-Xique (BA). Amostras de DNA foram amplificadas com cinco pares de primers SSR e analisados no analisador genético ABI3500 (Applied Biosystems), com marcador GS500LIZ e o tamanho dos alelos foi definido pelo software GeneMarker[®]. Os locos amplificados (CE9, CE10, CE11, CE13, CE14) mostraram-se polimórficos, exceto CE 13 que não amplificou em *P. microphylla*. O número de alelos por loco (*A*) variou de 5 a 7

em *P. bracteosa* ($A=5,6$), de 3 a 8 em *P. laxiflora* ($A= 5,2$), de 2 a 8 em *P. pyramidalis* ($A=5,0$) e de 2 a 4 em *P. microphylla* ($A= 3,3$), o que é considerado alto dentro do N amostral utilizado neste trabalho. Os números efetivos de alelos por locos foram maiores que os valores de A , indicando que alguns desses alelos têm alta frequência na população. As estimativas de diversidade gênica (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia (f) foram obtidas com auxílio do programa GDA. A população de *P. bracteosa* apresentou evidência de excesso de homozigotos ($H_e=0,72$; $H_o=0,64$), ao passo que, nas demais espécies, um excesso de heterozigotos: *P. laxiflora* $H_e=0,65$ e $H_o=0,67$; *P. pyramidalis* $H_e=0,57$ e $H_o=0,67$; e *P. microphylla* $H_e =0,62$ e $H_o=0,77$. Na caracterização dos locos, CE13 e CE10 mostraram-se mais endogâmicos nas diferentes espécies. Os resultados do presente estudo, com utilização dos primers SSR transferidos de *C. echinata* para espécies de *Poincianella*, demonstram a utilidade de amplificação cruzada com marcadores SSR para estudos populacionais em espécies pouco estudados. Apesar da forte pressão antrópica existente nas áreas em que essas populações foram amostradas, as quatro espécies apresentaram variabilidade genética relativamente alta, evidenciada pelos valores de H_e , o que as qualificam como adequadas para conservação genética. Apenas *P. bracteosa* possui níveis moderados de endogamia. A amplificação de três famílias de *P. pyramidalis* possibilitou a determinação de relações de paternidade na população amostrada, consistente com autoincompatibilidade nessa espécie.

ABSTRACT

BARBOSA, Isabela Santos, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Maio de 2013. **Genetic diversity of *Poincianella* species from Biome Caatinga based on microsatellite markers.** Orientador: Ronan Xavier Corrêa. Colaboradora. Fernanda Amato Gaiotto.

The Caatinga is a genuinely Brazilian Biome that has great wealth in its biodiversity. In the last years, there has been an accelerated rate of deforestation in these areas, especially due to the consumption of native firewood (explored in the illegal and untenable form) and to the conversion for pasture and agriculture. Even so, there is still a large number of species, as well as remnants of preserved vegetation, containing rare and endemic *taxa*. However, there is a shortage of studies that relate to the ecological, morphological and structural mechanisms that influence the genetic variability of most plant species. In this study, microsatellite markers of *Caesalpinia echinata* Lam. were used to analyze the genetic diversity of four species of *Poincianella* Britton & Rose that were relocated in new combinations as *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz, *Poincianella laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz, *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LPQueiroz and *Poincianella microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz. For *P. pyramidalis*, three families obtained by seed collection with identification of origin were analyzed for determination of paternity. The leaf samples used are from Bom Jesus da Lapa, Brumado, Iguaçu and Xique-Xique (BA). DNA samples were amplified with five pairs of microsatellite markers and analyzed in the genetic analyzer ABI3500 (Applied

Biosystems), with marker GS500LIZ and the size of the alleles was defined by the software GeneMarker®. The amplified *loci* (CE9, CE10, CE11, CE13, CE14) itself showed polymorphisms, except CE 13 that not amplified in *P. microphylla*. The number of alleles for *locus* (A) varied from 5 to 7 in *P. bracteosa* (A=5.6), from 3 to 8 in *P. laxiflora* (A=5.2), from 2 to 8 in *P. pyramidalis* (A=5.0) and from 2 to 4 in *P. microphylla* (A=3.3), which is considered high within the sample N used in this work. The effective numbers of alleles for *locus* were bigger than the values of A, indicating that some alleles have high frequency in the population. The estimates genetic diversity (H_e), heterozygosity observed (H_o) and inbreeding coefficient (f) were obtained using the program GDA. The population of *P. bracteosa* showed evidence of excess of homozygotes ($H_e=0.72$; $H_o=0.64$), whereas, in other species, an excess of heterozygotes: *P. laxiflora* $H_e=0.65$ and $H_o=0.67$; *P. pyramidalis* $H_e=0.57$ and $H_o=0.67$; and *P. microphylla* $H_e=0.62$ and $H_o=0.77$. In the characterization of the *loci*, CE13 and CE10 showed higher level of inbreeding in the different species. The results of this study, with the use of SSR primers transferred from *C. echinata* for species of *Poincianella*, demonstrated the usefulness of microsatellite markers for population studies in less studied species. Despite the strong anthropic pressure existing in the areas in which these populations were sampled, the four species showed relatively high genetic variability, evidenced by the values of H_e , which qualify as suitable for genetic conservation. Only *P. bracteosa* has moderate levels of inbreeding. The amplification of three families of *P. pyramidalis* allowed the determination of relations of paternity on the population sampled, consistent with self-incompatibility in this specie.

Keywords: Caesalpinia, SSR, conservation, paternity, gene flow

1. INTRODUÇÃO

Conhecido como "Mata Branca", o Bioma Caatinga recebe tal denominação em decorrência do aspecto de sua vegetação no período de estiagem: a maioria das plantas perde as folhas e os troncos tornam-se esbranquiçados e secos.

A Caatinga apresenta grande variação ambiental. Dentro dos seus recursos naturais, a cobertura vegetal aliada ao conhecimento e à inovação potencializa uma maior chance de manejo da Caatinga com vistas a criar potencialidades para serem integradas nas estratégias de desenvolvimento.

Mais de duas mil espécies foram identificadas no bioma Caatinga. Em torno de 130 espécies endêmicas desse bioma, consideradas prioritárias, podem apresentar vários usos como forrageiras, madeireiras, ornamentais, frutíferas, apícolas, plantas produtoras de fibra, ceras, óleos e taninos além de apresentarem propriedades medicinais (QUEIROZ, 2011).

Apesar da riqueza peculiar desse bioma em termos de biodiversidade e características das espécies e do ambiente, o uso insustentável de seus solos e seus recursos naturais ao longo de centenas de anos de ocupação, tornou o Bioma bastante degradado em quase 50% de sua extensão. Quando se analisa o uso de plantas da Caatinga, muitos trabalhos relatam o uso das mesmas como se todos os indivíduos de uma determinada espécie fossem iguais, sendo que poucos estudos consideram a variabilidade dentro das espécies (QUEIROZ, 2011).

Sampaio et al. (2006) alerta que as espécies da caatinga não foram alvo de estudos de variabilidade genética e de melhoramento, dando-se, quase sempre, prioridade às espécies exóticas.

Em contrapartida, Queiroz (2011) destaca que, por meio do estudo da variabilidade das espécies, é possível analisar a vantagem de variantes que podem ser encontradas, sendo, portanto, uma das condições fundamentais para que seja feita a domesticação dessas espécies com vistas a torná-las mais apropriadas para uso nos diversos fins a que se destinam.

A efetiva conservação genética de uma espécie requer o prévio conhecimento de seu sistema de reprodução, estrutura e diversidade genética. Estes conhecimentos permitem o delineamento de estratégias para a recombinação, amostragem e uso do material genético remanescente (NETO et al., 2005).

Desta forma, ao se estabelecer um programa de conservação de uma determinada espécie, uma das principais informações a serem obtidas é o conhecimento do sistema reprodutivo da espécie, pois este determina a forma como os genes são transferidos e combinados nas gerações posteriores (RITLAND; JAIN, 1981), além de fornecer informações importantes sobre os padrões de cruzamento, a dinâmica dos processos microevolutivos e quais as melhores formas para a conservação e manejo das espécies (OLIVEIRA et al., 2002).

Além disso, análises sobre o sistema reprodutivo de uma espécie, possibilitam inferir sobre a dinâmica de estruturação genética populacional, a heterogeneidade espacial dentro das populações e o grau em que as populações podem ser geneticamente subdivididas em decorrência da seleção e da deriva genética, características diretamente influenciadas pelo principal bioma de ocorrência das espécies em estudo, a Caatinga (SEOANE et al., 2005).

Os marcadores moleculares microssatélites destacam-se, como uma eficiente ferramenta molecular para estimar a endogamia e a taxa de cruzamento ou de autofecundação pois além de quantificar o processo de transmissão de genes entre plantas, eles descrevem a transmissão de genes

entre gerações e permitem uma ampla cobertura genômica para a espécie (OLIVEIRA et al., 2002).

É importante ressaltar que, apesar da diversidade de espécies do gênero *Caesalpinia*, apenas *Caesalpinia echinata* Lam.(pau-brasil) possui ferramentas moleculares disponíveis para estudo. Vinte e seis *primers* microssatélites foram desenvolvidos para *C. echinata*, dentre os quais 10 apresentaram padrões de amplificação típicos de microssatélites (MELO et al., 2007). Parte desses primers foi transferida para diferentes espécies de *Caesalpinia* s.l., uma ótima opção para dispor de marcadores microssatélites para um grande número de espécies, com maior rapidez para obtenção e menor custo financeiro (SABÓIA, 2013).

Uma das aplicações desses marcadores consiste em direcionar ações de conservação para espécies em estudos, dando informações sobre a dinâmica e o nível de sua preservação. Apesar da forte ocorrência das espécies de *Caesalpinia* s.l. na Caatinga, praticamente não se conhece informações mais relevantes, com exceção de *Poincianella pyramidalis* Tul. (L.P.Queiroz), para a qual há quantificação da diversidade genética, distribuição espacial dos genótipos e sistema de reprodução. O sistema de reprodução é o elo de ligação genética entre as gerações e a diversidade genética é o fator responsável pela adaptação e sobrevivência de indivíduos diante de mudanças ambientais e ataque de pragas e doenças (SEBBENN, 2002, RAJORA, PLUHAR, 2003).

A diminuição na diversidade genética pode predispor as espécies a doenças, reduzir o valor adaptativo e conseqüentemente a produtividade, limitando estratégias para manejo, conservação, melhoramento e com efeitos no processo evolutivo. Assim, a variabilidade genética pode ser vista como fundamental para a sustentabilidade e estabilidade do ecossistema (BARREIRA, 2005).

Além disso, alguns efeitos negativos dos fenômenos demográficos sobre a estrutura genética de populações podem ocorrer, como a perda de alelos, redução na heterozigosidade), aumento da divergência genética entre populações por deriva genética (DAYANANDAN et al., 1999; HAMILTON,

1999; YOUNG; BOYLE, 2000), aumento da taxa de autofecundação (MURAWSKI et al., 1994; ALDRICH ; HAMRICK, 1998; SEBBENN et al., 2001a; DICK, 2001; OBAYASHI et al., 2002) e ruptura no fluxo de genes via pólen e sementes entre populações (YOUNG et al., 1996; HAMILTON, 1999), alterando a vizinhança genética reprodutiva, o sistema de reprodução (SEOANE et al., 2001; ALDRICH e HAMRICK, 1998) e, conseqüentemente, a endogamia, coancestria e o tamanho efetivo das populações descendentes.

O presente estudo teve por objetivo geral descrever a diversidade genética de quatro espécies de *Caesalpinia* L. s.l que foram realocadas em combinações novas como *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz., *P. laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz., *P. pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz. e *P. microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz., para entender a variação genética dentro dessas populações, bem como determinar a paternidade em *P. pyramidalis*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Caracterização da Caatinga e das espécies em estudo

2.1.1 Biodiversidade da Caatinga

A Caatinga é uma formação vegetacional exclusivamente brasileira que foi reconhecida como uma das 37 Grandes Áreas Naturais do Planeta (GIL, 2002). Ocupa uma área de aproximadamente 850.000 km², que corresponde a 11% do território nacional e 70% de toda a região Nordeste, englobando de forma contínua parte dos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e uma pequena faixa do norte de Minas Gerais (Ministério do Meio Ambiente, 2013; PRADO, 2003).

A vegetação da Caatinga é composta principalmente por espécies xerofíticas, podendo apresentar uma fisionomia arbustivo-arbórea, ocorrendo em áreas com marcada sazonalidade e baixos índices de precipitação pluviométrica (RODAL; MELO 1999). Somente recentemente a biota da Caatinga vem sendo melhor estudada (LEAL et al., 2003). Em trabalhos qualitativos e quantitativos sobre a flora e vegetação da Caatinga, foram registradas cerca de 932 espécies arbóreas e arbustivas, sendo 318 endêmicas (GIULIETTI et al., 2002).

As famílias mais freqüentes são Caesalpinaceae, Mimosaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae e Cactaceae, sendo os gêneros *Senna*, *Mimosa* e *Pithecellobium* os com maior números de espécies. A catingueira (*P. pyramidalis*), as juremas (*Mimosa spp.*) e os marmeleiros (*Croton spp.*) são as

plantas mais abundantes na maioria dos trabalhos de levantamento realizados em área de caatinga (SAMPAIO et al., 1994).

Dentre a multiplicidade de comunidades vegetais, são várias as estratégias de sobrevivência no período seco. Muitas plantas perdem suas folhas para reduzir a perda de água, renovando-as quase que de um dia para o outro quando as chuvas chegam. Já os *cactos*, têm suas folhas modificadas em espinhos, sendo consideradas plantas suculentas devido a capacidade de acumularem água.

Além disso, existem plantas que são endêmicas da Caatinga e utilizadas comumente pela população devido as suas propriedades terapêuticas. Porém, a fauna merece destaque nesse bioma, principalmente, na quantidade de espécies de répteis e anfíbios (KILL et al., 2009). Os valores biológicos e econômicos denotados ao Brasil conferem, portanto, à Caatinga, uma diversidade biológica extremamente significativa, quando comparada com outras regiões semiáridas do mundo (TABARELLI et al., 2003).

Embora possua características tão marcantes, a Caatinga é uma das vegetações menos conhecida do país e tal situação foi, durante muito tempo, corroborada pela crença de que possui uma diversidade muito baixa, sem espécies endêmicas e fortemente modificada pelas ações antrópicas (GIULIETTI et al., 2004). Ressalta-se que essa vegetação é uma das que mais sofre com a interferência humana no Brasil e, em 2008, foi verificado que aproximadamente 45% da sua vegetação original já havia sido desmatada (Ministério do Meio Ambiente, 2013).

Segundo Castelletti et al. (2004), as últimas áreas intactas de vegetação nativa que ainda restam estão extremamente fragmentadas. Um trabalho realizado por Loiola et al. (2010), visando destacar a importância e a potencialidade dessa biodiversidade para a população no semiárido do Rio Grande do Norte, apontou a importância dos representantes da família Leguminosae, que de acordo com Queiroz (2002) é o grupo mais bem representado em número de espécies nas Caatingas e o que possui o maior número de táxons endêmicos (80). Os autores concluíram que embora as 25 espécies estudadas apresentem diferentes formas de utilidades, *P. pyramidalis*

(catingueira) destacou-se das demais, por ser citada em todas as categorias de uso consideradas (LOIOLA et al., 2010).

Nesse contexto, investimentos em pesquisas na Caatinga podem representar o conhecimento de suas bases, e desta forma, poderão definir ações para seu aproveitamento econômico, por meio de uma tecnologia própria sem agredir as relações naturais do ambiente e que preservem da ameaça de extinção da sua biodiversidade. Conseqüentemente a utilização sustentável dos recursos, a partir de manejo adequado da sua biodiversidade, poderá impulsionar o desenvolvimento da região.

2.1.2 Aspectos morfológicos e biologia das espécies

A subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae), compreende 171 gêneros com cerca de 2.250 espécies tropicais e subtropicais e consiste em uma das mais representativas da Caatinga, com grande variabilidade de estruturas reprodutivas e vegetativas (SCHRIRE et al., 2005). Dentro do grupo, o gênero mais representativo, *Caesalpinia* s.l., tradicionalmente é composto de 140 espécies, apresentando ainda um alto grau polifilético, partindo de estudos moleculares e morfológicos. Além disso, a considerável variação morfológica em suas folhagens, tamanho, forma e indumento, levou a uma proliferação de nomes de espécies, incluídas na sinonímia (LEWIS et al., 2005)..

Desta forma, a maioria das espécies foi atribuída aos gêneros segregadamente reintegrados: *Caesalpinia* s.s. (com vinte e cinco espécies), *Coulteria* (dez espécies), *Erythrostemon* (treze espécies), *Guilandina* (sete espécies), *Libidibia* (oito espécies), *Mezoneuron* (vinte e seis espécies), *Poincianella* (trinta e cinco espécies), *Pomaria* (dezesseis espécies) e *Tara* (três espécies) (Gasson et al., 2009). Apesar disso, devido à carência de mais dados, especialmente as sequências de DNA, muitos táxons permanecem não atribuídos. Segundo Rodrigues et al. (2012; 2013), dados de citogenética (clássica e molecular) e citometria (conteúdo de DNA) corroboraram com a alocação das *Caesalpinia* L. s.l. da Caatinga no gênero *Poincianella*.

Até o momento, apenas 42 espécies de *Caesalpinia* foram estudadas quanto à polinização ou ao sistema reprodutivo (MACHADO et al., 2006). A maioria dessas espécies é polinizada principalmente por abelhas geralmente de tamanho médio a grande, havendo o registro de espécies autoincompatíveis e autocompatíveis (Silva, 2004).

Compreender ou avaliar o fluxo gênico mediado por movimentação do pólen ou semente é essencial para entender os processos relacionados com os riscos de extinção em plantas. Estudo realizado por Leite e Machado (2009), verifica a autoincompatibilidade em *P. pyramidalis*, por meio da observação da germinação de tubos polínicos crescendo até o saco embrionário após polinização manual. Além disso, as flores de *P. pyramidalis* são visitadas preferencialmente por abelhas de *Xylocopa* e *Centris*. Apesar de sua ampla distribuição, há regiões antropizadas com poucos remanescentes de *P. pyramidalis*. Desta forma, esses sítios poderiam representar situações concretas de perda de alelos, demonstráveis na análise da diversidade adultos e juvenis encontrados nessas áreas.

A estratégia imediata de monitoramento ou avaliação de populações de plantas deve focar no estado sexual de reprodução, especialmente nos processos de fluxo gênico, já que a previsão atual de fluxo gênico, especialmente sobre gerações de plantas silvestres, é um importante problema em estudos de conservação da biodiversidade.

O conhecimento a respeito de como a diversidade genética está estruturada no espaço geográfico, bem como das relações filogenéticas entre diferentes táxons e dos níveis atuais de fluxo gênico, contribuem de maneira importante para nosso entendimento sobre a história evolutiva e sobre a dinâmica populacional de diversas espécies (CABALLERO et al., 2010). Os parâmetros inferidos através das análises genéticas de populações são de grande importância para a determinação de estratégias adequadas à conservação da biodiversidade (AVISE 2010).

Além disso, a reprodução sexual, por meio da recombinação gênica desempenha um papel importante na adaptação das espécies para mudanças no ambiente, na introdução de resistência para pragas. Tais mudanças das tendências da população avaliam processos genéticos e/ou ecológicos que

fundamentam os padrões observados e tornam-se, portanto, indispensáveis para práticas eficazes de conservação.

O conhecimento da estrutura floral e da biologia reprodutiva numa cultura é básico para que sejam desenvolvidas técnicas adequadas de manejo e polinização, por exemplo. Segundo Damião Filho (1993), o progresso que se tem acompanhado quanto aos estudos de diversidade e fluxo gênico em plantas cultivadas se deve aos estudos dos processos reprodutivos que ocorrem nas flores.

O manejo e a caracterização de germoplasma de espécies vegetais têm sido realizados ao longo dos anos, primordialmente, com base em características agrônômicas e morfológicas. E, estas, são afetadas, em maior ou menor grau, pelas condições ambientais, podendo, como consequência, não representar com fidelidade as similaridades e/ou as diferenças genéticas existentes entre indivíduos (ANDERSEN; FAIRBANKS, 1990; RAFALSKI ; TINGEY, 1993).

O conhecimento desses processos torna-se, portanto, essencial para a manutenção da biodiversidade de áreas fragmentadas e para programas de manejo destes ecossistema

2.1.3 Diversidade de habitat, curiosidades e importância sócio econômica

Uma das principais formas de uso da vegetação da Caatinga é o corte da madeira para lenha e carvão. Contudo, faltam informações sobre o tratamento e época de corte que causem menos impacto sobre a capacidade de regeneração e recuperação da produtividade das diferentes espécies exploradas (SAMPAIO et al., 1998; VÍRGINIO; PAREYN, 2002; FRANCELINO et al., 2003; ANDRADE et al., 2005; FIGUEIRÔA et al., 2005; FIGUEIRÔA et al., 2006; ARAÚJO et al., 2007; SANTOS et al., 2008).

Poincianella pyramidalis é uma das espécies de mais ampla dispersão, do grupo *Caesalpinia* s.l., no nordeste semiárido, com ocorrência nos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia. É conhecida popularmente como catingueira por sua endemia no

Bioma Caatinga. Apresenta hábito arbóreo de porte médio, sem espinhos, com 4-6 m de altura, podendo atingir até 12 m. A madeira é usada como lenha, carvão, estacas, mourões, na construção de casas de taipa e pode ser utilizada para produção de álcool combustível e coque metalúrgico. A cinza da madeira tem elevado teor de potássio e é usada para fabricação de sabão. O chá é utilizado para tratamento de hepatite e anemia. Além disso, a espécie é indicada para a primeira e a segunda fase de recomposição florestal mista de áreas degradadas (MAIA, 2004).

Poincianella bracteosa (Tul.) L.P.Queiroz, também conhecida vulgarmente como catingueira, é uma planta comum em toda a Caatinga, endêmica do Brasil. Existem de fato três espécies conhecidas como catingueiras muito parecidas. Um indivíduo adulto pode variar de 3 a 10 m em altura, dependendo das condições físicas do ambiente e nível de perturbação, uma vez que, se cortada, ao brotar atinge menor porte e vários troncos. Comumente, as árvores são de porte pequeno dado à raridade de plantas de idade avançada (CASTRO; CAVALCANTE, 2011).

Uma característica marcante nessa espécie é o mau cheiro exalado das folhas maceradas, justificando seu nome popular. Na estação seca a catingueira fica totalmente destituída de folhas, entrando em vida latente. Além disso, é uma alternativa como forrageira no período da estiagem na Caatinga. A vagem é achatada, lenhosa (dura) pontuda, com 5-7 sementes que são lançadas longe quando a vagem abre bruscamente de forma elástica, se contorcendo. A madeira é utilizada para estacas, lenha, carvão e na construção das casas de taipa. Folhas e cascas são usadas no tratamento de infecções catarrais, diarreias, gases, dor de barriga, hepatite e anemia. As cascas postas em cachaça são tidas como afrodisíacas. Seus ocos no tronco, em árvores idosas, são muito utilizados por abelhas nativas. A cinza da madeira também é usada para fabricação de sabão.

Poincianella laxiflora, conhecida popularmente como catingueira, é uma árvore pequena (em torno de 6 m de altura) que se distribui de maneira endêmica na Caatinga, mais precisamente nos estados da Bahia e Pernambuco (IUCN, 2015). Queiroz (2009) afirma que esta espécie ocorre

principalmente em formas mais abertas de caatinga, geralmente com predominância do estrato arbustivo, às vezes em áreas moderadamente antropizadas, de 400 a 700 m de altitude.

Até o presente momento, não há estudos de diversidade ou de sistema reprodutivo de *P. laxiflora*. Porém, estudo de ocorrência foi feito por Jesus (2013), que detectou essa espécie como sendo a mais abundante comum a dois fragmentos de estudo, além de destacar que a sua monodominância (50% dos indivíduos) é um forte indício de perturbações passadas, sofrida pela vegetação. Além disso, foi possível observar que *P. laxiflora* esteve entre as mais utilizadas como medicinais, apesar de não ter sido encontrado nenhum estudo científico conclusivo que comprove tais propriedades. Assim, a monodominância da espécie pode estar relacionada à sua utilização. No entanto, esta consideração só pode ser afirmada em trabalhos que façam estimativas de frequência e intensidade de uso da espécie.

Em trabalho realizado por Gonzaga (2010), em áreas de caatinga arbórea-arbustiva sob forte influência de criação de bovinos, ovinos e caprinos, no município de Castro Alves-BA, a *P. laxiflora* foi a espécie predominante. Damascena (2011), trabalhando em áreas de Caatinga Parque, destacou essa espécie como sendo a de maior valor de importância e maior dominância em sua área de estudo, dando indicações que os efeitos da antropização sobre esta vegetação ainda não superaram o poder de resiliência.

Não existem medidas de conservação conhecidas especificamente para *P. laxiflora*. Para isso, amostras de sementes de *P. laxiflora* devem ser recolhidas e armazenadas como uma medida de conservação *ex situ*, desde que suas sementes não sejam recalcitrantes, sendo que nesta última hipótese, essas sementes devem ser utilizadas para formação de bancos ativos de germoplasma. Além disso, o trabalho de campo é recomendado para entender melhor a área de distribuição da espécie e o *status* da população.

Poincianella microphylla (Mart. ex G. Don) L.P. Queiroz, a “Caatingueirinha”, é uma espécie endêmica do bioma Caatinga que, segundo Silva et al., (2014), apresenta atividade antimicrobiana (que pode justificar o

uso etnofarmacológico) e é tida como planta facilitadora, apresentando potencial para a recuperação de áreas degradadas (PEREIRA et al., 2015).

A possibilidade de utilização dessa espécie em projetos de recuperação de áreas degradadas está exposta no estudo inédito para a Caatinga realizado por Paterno et al. (2010), no qual *P. microphylla*, além de *Mimosa tenuiflora* e *Cnidoscolus quercifolius*, foram consideradas plantas facilitadoras (enfermeiras) e apresentam grande potencial para a recuperação de áreas degradadas da Caatinga. Além disso, por essas espécies serem comuns em áreas degradadas, seu potencial como aceleradoras do processo sucessional e de restauração ecológica se torna mais relevante e significativo. Para a pesquisa foram utilizadas sementes e quando se leva em conta o preço, o tempo para produção de mudas e o gasto com água, que nas regiões semi-áridas é um recurso escasso, o uso de sementes demonstrou ser uma técnica eficiente. Desta forma, futuros projetos de restauração da Caatinga utilizando sementes devem ser desenvolvidos para que se avance o conhecimento teórico-prático de uma restauração ecológica mais barata e eficaz nesse bioma.

2.1.4 Estudos taxonômicos e citogenéticos

Os estudos taxonômicos demonstram que *Caesalpinia* não é um grupo natural, mas sim é composto por cerca de 10 gêneros (LEWIS et al., 2005; GASSON et al., 2009). As principais espécies de *Caesalpinia* s.l. que ocorrem na Caatinga foram todas caracterizadas por citogenética, demonstrando-se que elas possuem $n=12$, $2n = 24$ cromossomos, com padrões morfométricos que distinguem as diferentes espécies (RODRIGUES et al., 2012; 2013). Na análise citogenética, uma descrição dos números de cromossomos e tamanho, bem como do padrão de bandas e a posição do centrômero, frequentemente contribuem para a compreensão da evolução em plantas (SHAN et al., 2003) e para a elucidação dos fatores que têm sido envolvidos na diversificação evolutiva do táxon (PEDROSA et al., 2000; VILATERSANA et al., 2000).

A caracterização taxonômica de *Caesalpinia* têm passado por frequentes revisões em estudos filogenéticos (LEWIS, 1998; GASSON et al., 2009; QUEIROZ, 2009).

Os dados cariomorfológicos completos das espécies de *Poincianella* que ocorrem na Caatinga, além de outros gêneros, foram descritos por Rodrigues et al. (2012; 2014) Desta forma, ainda que seja reduzida a quantidade de espécies de *Caesalpinia* com dados de cariomorfologia descritos, tais informações foram importantes para confirmar a redistribuição de *Caesalpinia* s.l. em diferentes gêneros.

2.2 Parâmetros de diversidade em *Caesalpinia*

Segundo o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2010), o Brasil é o principal país entre aqueles detentores de megadiversidade, possuindo entre 15 e 20% do número total de espécies da Terra. Gerir essa formidável riqueza demanda ação urgente, fundamentada em consciência conservacionista e espelhada em políticas públicas que representem as aspirações da sociedade e, portanto, uma ação conjunta para amenizar a intensa ação antrópica que vem degradando os diversos biomas brasileiros, comprometendo, portanto, o aporte biológico de espécies e recursos naturais.

A formação de fragmentos florestais, ocasionados pela exploração ambiental, converte uma vegetação contínua em áreas isoladas com redução e isolamento das populações, podendo provocar a redução nas taxas de migração, aumento das taxas de mortalidade, deriva genética, efeito de borda e perda de espécies raras e ameaçadas de extinção. Todos esses fatores podem levar a uma redução da diversidade genética das espécies (YOUNG et al., 1996).

A diversidade genética tem sido referida como a riqueza de espécies dentro de um ecossistema e também como o nível de variabilidade gênica existente dentro de cada população (NEI, 1973; FUTUYMA, 1992) que pode ser medida pelo nível de heterozigosidade esperada nas proporções do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, independente de efeitos de migração, seleção, mutação ou sistema reprodutivo. Weir (1996) considera que a heterozigosidade

esperada, ou diversidade gênica, é uma medida adequada para quantificar a variação tanto em população de espécies autógamas, como em alógamas. Além disso, ele também concorda que a frequência de heterozigotos é um importante indicador da diversidade genética, uma vez que cada heterozigoto carrega dois alelos diferentes.

A preservação da diversidade genética intra e interpopulacional é o principal objetivo da biologia da conservação (HAMRICK et al., 1991). Isto significa que, para que o germoplasma de uma determinada espécie seja conservado é importante que se entenda como a variância é distribuída e quais as características do ambiente ou da espécie que influenciam esta distribuição. Desta forma, pode-se estabelecer populações representativas do germoplasma de uma dada espécies estabelecidas, visando sua utilização em programas de conservação.

Assim, se o tamanho de uma população é substancialmente reduzido, pode-se ter como consequências genéticas, fenômenos tais como depressão por endogamia e/ou diminuição da variabilidade, o que por sua vez afetará o valor adaptativo geral da população (SACCHERI, 1988). Em decorrência destes acontecimentos, o tamanho efetivo da população irá declinar, levando assim a população à extinção. Portanto, informações sobre a diversidade e/ou estrutura genética são extremamente importantes antes que decisões sobre manejo sejam adotadas.

A quantidade de diferenciação genética entre populações pode também fornecer dados para o planejamento de ações tais como: reforço da variabilidade das populações atuais, reintrodução ou manutenção de coleções *ex situ* ou coleções de sementes. Devido a razões práticas e financeiras, nem todas as populações em perigo de extinção podem ser conservadas, portanto, prioridades devem ser estabelecidas (GAUDEUL et al., 2000), tendo como base a conservação de populações que apresentem níveis genéticos mais diversos e/ou diferenciados.

Entretanto, se o esforço de uma população atual é considerado, os novos indivíduos a serem introduzidos na população devem ser escolhidos de modo a serem ecologicamente e geneticamente semelhantes às populações,

no sentido de evitar depressão por fertilização cruzada, devido à destruição de complexos gênicos coadaptados (CONSON et al., 2013).

Vale ressaltar que os dados genéticos não contribuem apenas para a conservação da diversidade genética de uma única espécie, e sim para conservação de outras espécies e comunidades ecológicas (FRANKHAM, 1999), visto que todas estão interagindo continuamente dentro dos ecossistemas. A perda de uma espécie, uma população ou até uma comunidade biológica inteira abala o equilíbrio ecológico do ecossistema como um todo (WILSON, 1997).

Os parâmetros de diversidade genética em *Caesalpinia* s.l. indicam níveis altos de diversidade genética. Por exemplo, em Melo (2005), a análise de duas populações naturais (Serra do Teimoso e Estação Ecológica Pau-Brasil) demonstraram que as duas populações apresentaram altos níveis de heterozigosidade esperada, $H_e = 0,63$ e $H_e = 0,59$, respectivamente. A heterozigosidade observada (H_o) foi de 0,53 (S. Teimoso) e 0,24 (ESPAB), caracterizando um excesso de homozigotos, principalmente na população da ESPAB.

Além disso, o coeficiente de endogamia estimado para população natural da ESPAB foi excepcionalmente alto e significativo ($F_{IS} = 0.59$), e fora dos padrões esperados para populações naturais de espécies arbóreas tropicais alógamas. Este índice ressalta a tendência ao excesso de homozigotos dessa população

Sabóia (2013) encontrou, para *C. echinata* de banco de germoplasma, valores de $H_e=0,61$, demonstrando um alto índice de variabilidade gênica e $H_o=0,59$. Em populações naturais dessa espécie foram encontrados valores de $H_e=0,61$, $H_o=0,52$. Tais valores contrastantes de H_o indicaram um excesso de homozigotos.

3. RESULTADOS

Diversidade genética de espécies de *Poincianella* e paternidade em *P. pyramidalis* com base em microssatélites

Isabela Santos Barbosa, Fernanda Amato Gaiotto e Ronan Xavier Corrêa

(Manuscrito a ser submetido para publicação)

Resumo

No presente trabalho, objetivou-se descrever a diversidade genética de quatro espécies de *Poincianella* Britton&Rose. Adicionalmente, a análise de paternidade foi realizada em três famílias de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz. Cinco marcadores microssatélites transferidos a partir de *Caesalpinia echinata* Lam. foram utilizados para amplificar amostras de DNA de *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz, *Poincianella laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz, *P. pyramidalis* e *Poincianella microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz. Essas amostras foram coletadas no estado da Bahia, nos municípios de Brumado, Bom Jesus da Lapa, Iguaçu e Xique-Xique, utilizando-se de 8 a 47 plantas por espécie. Os locos amplificados mostraram-se polimórficos, apresentando cerca de cinco alelos por loco, exceto em *P. microphylla* que apresentou cerca de três alelos por loco. Na caracterização dos locos, CE13 e CE10 mostraram-se mais endogâmicos nas diferentes espécies. Os números efetivos de alelos por locos foram maiores que os valores de A, indicando que alguns desses alelos têm alta frequência na população. A população de *P.*

bracteosa apresentou evidência de excesso de homozigotos ($H_e=0,72$; $H_o=0,64$) e maior endogamia ($f=0,11$), enquanto as demais espécies apresentaram um excesso de heterozigotos e valores negativos de f . Apesar da forte pressão antrópica existente nas áreas em que essas populações foram amostradas, as quatro espécies apresentam variabilidade genética relativamente alta. A ausência de autofecundação em *P. pyramidalis* é consistente com a característica de autoincompatibilidade presente nessa espécie.

Palavras-chave: Genética populacional, *Caesalpinia s.l.*, Caatinga.

Abstract

In the present study, we aimed to describe the genetic diversity of four species of *Poincianella* Britton&Rose. In addition, the analysis of paternity were performed in three families of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz. Five microsatellite markers transferred from *Caesalpinia echinata* Lam. were used to amplify DNA samples of *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz, *Poincianella laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz, *P. pyramidalis* and *Poincianella microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz. These samples were collected in the State of Bahia, in the municipalities of Brumado, Bom Jesus da Lapa, Iguaçu and Xique-Xique, using 8 to 47 plants per species. The amplified locos itself showed polymorphisms, presenting around five alleles for loco, except in *P. microphylla* what presented around three alleles for locus. In the characterization of the *loci*, CE13 and CE10 itself showed higher inbreeding in the different species. The effective numbers of alleles for *loci* were bigger than the values of A , indicating that some of these alleles have high frequency in the population. The population of *P. bracteosa* showed evidence of excess of homozygote ($H_e=0.72$; $H_o=0.64$) and higher inbreeding ($f=0.11$), while the other species showed an excess of heterozygotes and negative values of f . Despite the strong anthropic pressure existing in the areas in which these populations were sampled, the four species have relatively high genetic variability. The absence of self-fecundation in *P. pyramidalis* is consistent with the characteristic of self-incompatibility present in this specie.

Keywords: Population genetic, *Caesalpinia s.l.*, Caatinga.

Introdução

Caesalpinioideae (Leguminosae) possui cerca de 730 gêneros que reúnem mais de 19.000 espécies tropicais e subtropicais, consistindo em uma das mais representativas da Caatinga, com grande variabilidade de estruturas reprodutivas e vegetativas (QUEIROZ, 2009; SCHRIRE et al., 2005). Dentre esses gêneros, destaca-se *Caesalpinia* s.l. sendo bem representado no Nordeste do Brasil. Tradicionalmente é composto de 140 espécies e continha um máximo de 25 sinônimos genéricos, apresentando ainda um alto grau polifilético, partindo de estudos moleculares e morfológicos.

A considerável variação morfológica em *Caesalpinia* s.l. (em suas folhagens, tamanho, forma e indumento) levou a uma proliferação de nomes de espécies incluídas na sinonímia. Recentemente, Queiroz (2009) distribuiu as espécies desse gênero que ocorrem no bioma Caatinga do Nordeste do Brasil para *Erythrostemon* Klotsch (uma espécie), *Libidibia* (DC.) Schldl (uma espécie) e *Poincianella* Britton & Rose (seis espécies). Nesta realocação, destacam-se quatro espécies, tratadas aqui como objetos de estudo: *Poincianella Bracteosa*, *P. laxiflora*, *P. pyramidalis* e *P. microphylla*.

Com vasta ocorrência em zonas tropicais e subtropicais, *Poincianella* é fortemente identificado por uma variedade de espécies no bioma Caatinga. Ferraz et al. (2012) descreveu usos para combustível, lenha e carvão vegetal, construções rurais, medicinal e outros usos não madeireiros. No entanto, além da perturbação antrópica sofrida pela Caatinga, os conhecimentos sobre mecanismos ecológicos, morfológicos e estruturais, que atuam sobre a variabilidade genética dessas espécies, são escassos.

Dessa forma, os esforços para a conservação da Caatinga enfrentam grandes desafios. Embora esse bioma apresente altos índices de biodiversidade e endemismo, ele se encontra em situação crítica de alteração do ecossistema natural. De acordo com Casteletti et al. (2004), 45,3% da área total do bioma está alterada, fato que o coloca como o terceiro bioma brasileiro mais modificado pelo homem, sendo ultrapassado apenas pela Mata Atlântica e pelo Cerrado.

Como consequência da degradação ambiental e da falta de preservação, deve ter havido perda da biodiversidade da Caatinga. A

Biodiversitas (2001) cita, para esta formação vegetal, 19 espécies ameaçadas, das quais 18 são consideradas como vulneráveis e uma em perigo de extinção. A legislação brasileira indica várias espécies da flora e fauna da Caatinga como ameaçadas de extinção (Portarias do IBAMA N° 83/1991 e N° 37-N/1992). Dentre elas, as espécies *Myracrodruon urundeuva*, *Schinopsis brasiliensis*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Amburana cearensis* encontram-se na categoria de vulneráveis.

Atualmente foi mapeada uma área de aproximadamente 90 mil Km², o que representa 14% dos seis Estados e 9,15% do total da Caatinga. Até o momento, o monitoramento revela 40% de Caatinga preservada, 45% de Caatinga degradada, 7,2% de solo exposto, 6,5% de lavoura e 0,7% de corpos d'água (INPE, 2015).

Além disso, os estudos com as espécies nativas da Caatinga encontram sérias dificuldades no sentido de que muitas pesquisas as consideram como sendo todas iguais, sem considerar a diversidade intraespecífica. Nesse sentido, a manutenção da diversidade genética é um dos principais focos da genética da conservação, pois é ela que permite o potencial adaptativo e evolutivo de uma espécie. Por esse motivo, o conhecimento da composição e estruturação genética das populações é fundamental para as ações de manejo e conservação (FRANKHAM et al., 2008).

Nas últimas décadas houve uma ampliação considerável do uso dos marcadores moleculares microssatélites para quantificar a diversidade genética das populações. Esses marcadores são altamente polimórficos e informativos, além de apresentarem herança codominante, serem multialélicos e baseados na reação de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (ALVES, 2008).

A taxa de mutação dos microssatélites é suficientemente alta para detectar variabilidade mesmo em situações de parentesco. Ao mesmo tempo é baixa para que uma forte estabilidade seja mantida de geração para geração e, com isso, permitir a definição de perfis genéticos informativos e estáveis para a discriminação de indivíduos, demonstrando variações intra e inter populacionais (EGITO et al., 2004; MENEZES et al., 2006). Portanto, ressalta-se que a conservação dos recursos genéticos de uma determinada espécie converge estratégias de manutenção da variabilidade genética de interesse atual e potencial para utilização econômica e sustentável desse bioma.

Nesse contexto, foram gerados os seguintes questionamentos: i) Como está distribuída a diversidade genética intrapopulacional em quatro espécies de *Poincianella*? ii) O sistema reprodutivo de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz pode ser confirmado na população amostrada? Para responder essas perguntas, o objetivo do presente trabalho foi descrever a diversidade genética de espécies de *Poincianella* amostradas na Caatinga e determinar a paternidade em uma população de *P. pyramidalis*.

Material e Métodos

A escolha de espécies para estudos de diversidade genética geralmente é realizada de acordo com o ambiente de ocorrência, e com o *status* de conservação de cada espécie, dados que podem ser fornecido pela União Internacional para a conservação da natureza e dos recursos naturais (IUCN). As espécies do presente estudo são descritas como ocorrentes na caatinga e para *P. pyramidalis*, há mais informações em literatura.

Entre 2010 e 2012, as áreas em que foram coletadas as amostras desse trabalho passaram pelas seguintes modificações: os fragmentos florestais onde estão *P. bracteosa* e *P. pyramidalis* foram transformados em pastagem; o fragmento onde estava *P. laxiflora* foi utilizado para área de expansão urbana; as plantas de *P. microphylla* encontram-se em pastagens para caprinos. Nos registros da IUCN (IUCN 2013), apenas *P. laxiflora* foi avaliada como pouco preocupante, visto que o número de indivíduos adultos é relativamente grande.

As quatro espécies analisadas são *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P.Queiroz., *P. laxiflora* (Tul.) L.P.Queiroz., *P. pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz. e *P. microphylla* (Mart.) L.P.Queiroz (Figura 1).

As espécies *P. bracteosa*, *P. laxiflora* e *P. pyramidalis* são conhecidas como catingueira, ao passo que *P. microphylla* é conhecida como catingueira rasteira ou catingueirinha. As amostras de folha foram obtidas nas mesmas populações analisadas citogeneticamente por Rodrigues et al. (2012; 2014), em que foi observado o número cromossômico $2n=24$, e sua morfometria cromossômica, padrão de heterocromatina e dados de conteúdo nuclear de DNA são típicos para cada espécie.

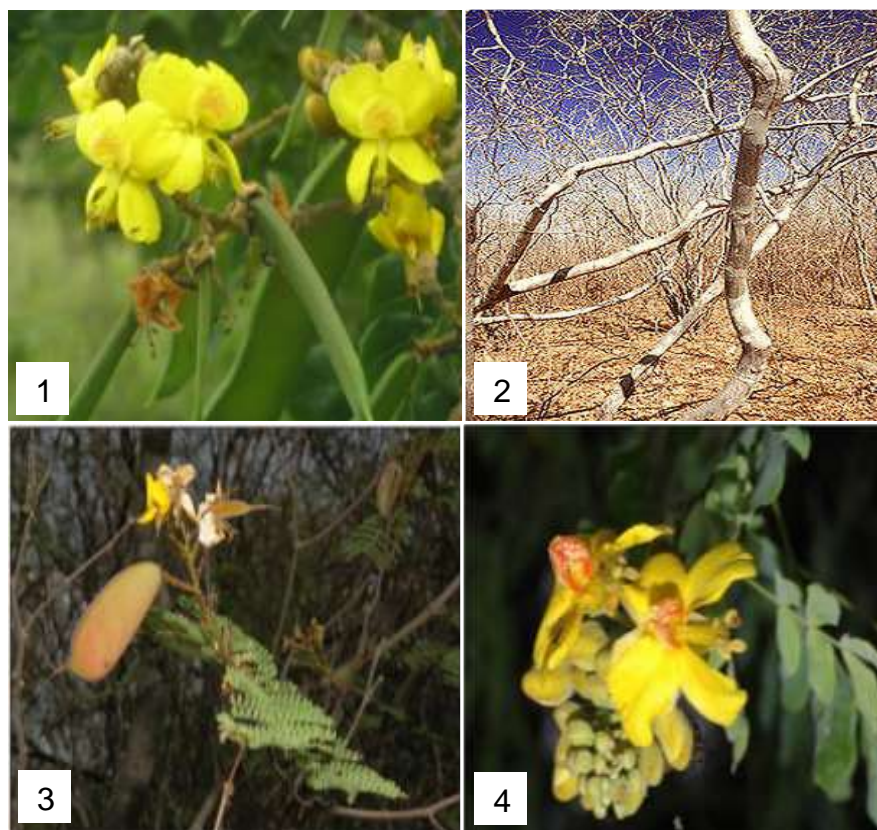


Figura 1. Aspectos morfológicos das espécies utilizadas. 1. *P. bracteosa* (Herbário Sérgio Tavares, UFRPE); 2. *P. laxiflora* (Arquivo pessoal); 3. *P. microphylla* (Herbário do Vale do São Francisco - HVASF); 4. *P. pyramidalis* (HVASF).

Foram coletadas de 8 a 47 plantas para cada espécie, totalizando 196 amostras examinadas (Tabela 1). As coordenadas geográficas obtidas durante as coletas de amostras foram utilizadas para gerar o mapa geográfico, permitindo determinar as distâncias entre as populações (Figura 2). O material foliar após coletado foi mantido em sílica gel até ser armazenado em freezer a -20°C no Laboratório marcadores moleculares no Centro de Biotecnologia e Genética (CBG) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

As amostras de indivíduos adultos de *P. pyramidalis* representam dois grupos: os acessos 46, 47, 48, 50, 51, 186, 187, 188, 189, 190 e 191 foram coletados em um fragmento tipo capoeira, em 2009, ao passo que as amostras 305 a 309, foram coletadas nesta mesma localidade, em 2012, ano em que

restavam menos de dez plantas nessa região. As amostras de plantas jovens correspondem a frutos coletados em três árvores remanescentes em 2012.

O DNA genômico total foi extraído do material foliar pelo método CTAB Doyle e Doyle (1990), e diluídas para a concentração de 10 ng/μL para realização da PCR. As amostras de DNA foram submetidas a reações de PCR contendo os cinco pares de primers de regiões de microssatélites previamente desenvolvidos para *C. echinata* (MELO et al., 2007) e transferidos para diferentes espécies de *Caesalpinia* s.l. (SABÓIA, 2013).

Tabela 1. Espécies utilizadas no estudo: dados de coletas com informações de número de campo, GPS, localidade, quantidade de amostras coletadas e altitude da região.

Nome da espécie	Nº campo/ GPS	Local de coleta	N	Altitude (m)
<i>Poincianella bracteosa</i>	1 a 4, 9 a 13, 25 a 27, 88 a 97 (S 14° 02' 06,8" W 41° 40' 49,9")	Brumado	21	300m
<i>Poincianella bracteosa</i>	138, 211, 212 a 215, 317, 320. (S 10° 49' 38,7" W 42° 19' 59,2")	Iguaçu	8	
<i>Poincianella laxiflora</i>	49, 52 a 66, 98 a 107, 185, 192 a 196, 226 a 229 (S 10° 59' 20,6" W 42° 19' 59,2")	Iguaçu	33	460m
<i>Poincianella microphylla</i>	108 a 115, 139 a 155, 216 a 225 (S 10° 49' 38,7" W 42° 41' 24,1")	Xique Xique Sul	– 35	400m
<i>Poincianella microphylla</i>	132 a 137, 310 a 316, 318, 319, 321 a 341 (S 10° 58' 77,7" W 42° 42' 97,3")	Xique Xique Norte	– 36	420m
<i>Poincianella pyramidalis</i>	46 a 48, 50, 51, 186 a 191 (adultas), 305 a 309 (adultas) (S 13° 19' 22,3" W 43° 20' 16,0")	Bom Jesus da Lapa	16	443m
<i>Poincianella pyramidalis</i> (progênies)	305A-J, 309A-Z, 306A-K (S 13° 19' 22,3" W 43° 20' 16,0")	Bom Jesus da Lapa	47*	
Total			196	

*Cerca de 12 sementes coletadas de diferentes matrizes, dentre as 11 plantas adultas no mesmo fragmento florestal com 200 m de comprimento e 20 m de largura. Xique-Xique Sul, refere-se ao trecho compreendido entre km 447 a 456 da BR 454; Norte, km 14 a 16 da BA160.

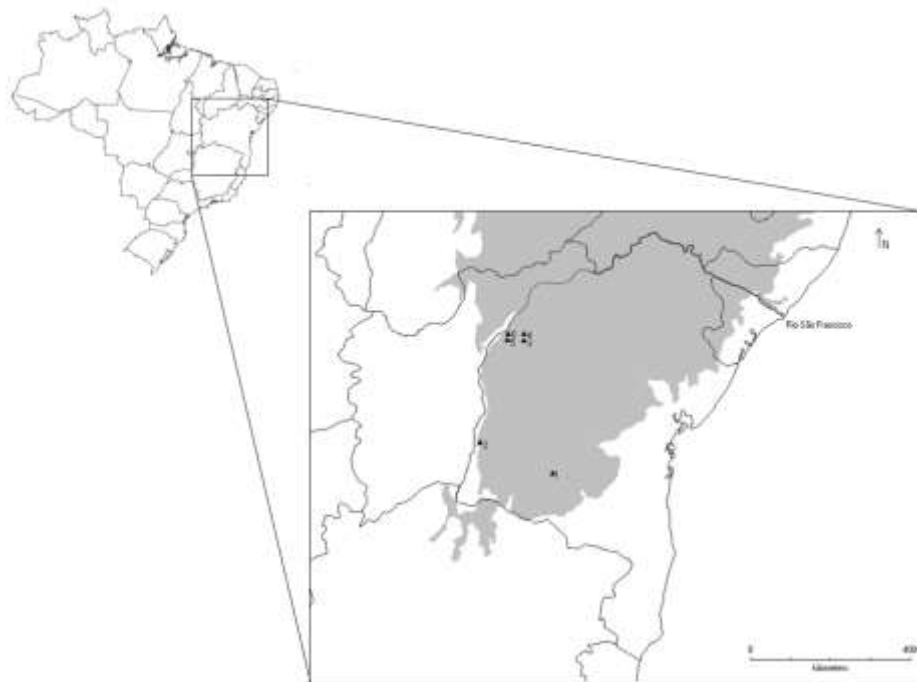


Figura 1. Localização das regiões de coleta no estado da BA: 1 Brumado; 2 Bom Jesus da Lapa; 3 e 4 Iguaçu; 5 Xique-Xique Norte; 6 Xique-Xique Sul.

Apesar das amostras utilizadas para o presente estudo serem do mesmo gênero, houve a necessidade de ajustes nas Ta's, bem como no protocolo para as reações, já que na síntese dos primers, foi adicionado uma cauda de m13 à ponta 5' do primer *forward*. Em face disso, o programa também sofreu alteração com a inserção de mais 8 ciclos a 53°C.

A mistura de 13 µL para a realização da reação de polimerização em cadeia (PCR) utilizando primers de *C. echinata* foi composta por 30 ng de DNA genômico, 0,8 µL de dNTP a 2,5 µmol.L-1, 0,5 µL de MgCl₂ a 25 mmol.L-1, 1,0 µL de tampão PCR 10X (Tris-HCl 1 mol.L-1, KCl 50 mol.L-1, MgCl₂ 1,5 mol.L-1, pH 8,3), 0,5 µL de primer reverse e 0,25 µL de primer *forward* com cauda M13 (10 µM), 0,5 µL de primer M13 marcado com fluorescência NED, 6-FAM, HEXA a 10 µmol.L-1 e 0,2 µL de Taq DNA polimerase (5U/µL) (Fermentas) e 5,25 µL de água autoclavada.

As amplificações foram realizadas em termociclador Applied Biosystems programado para: 94 °C por 5 min, 30 ciclos de 94 °C por 45s, temperatura de anelamento específica para cada par de "primer" (Tabela 1) por 45s, 8 ciclos de 94 °C por 45s, 53 °C por 45s, 72 °C por 1 min, terminando com 8 min a 72 °C.

Os produtos da PCR foram verificados no analisador genético ABI3500 (Applied Biosystems) com marcador GS500LIZ. O tamanho dos alelos foi definido pelo GeneMarker® (Figura 2). Um kit pentaplex foi montado para cada espécie para realização da genotipagem semi-automática, a partir das reações de PCR feitas separadamente para cada loco.

Um kit pentaplex foi montado para cada espécie, baseando-se na amplitude alélica, apresentada nas reações de otimização, para realização da genotipagem semi-automática, a partir das reações de PCR feitas separadamente para cada loco. Inicialmente, seriam oito locos analisados, porém, três deles não amplificaram de maneira satisfatória para as 4 espécies, sendo, portanto, excluídos. Além disso, as variações nas temperaturas de anelamento inviabilizaram que assim prosseguisse.

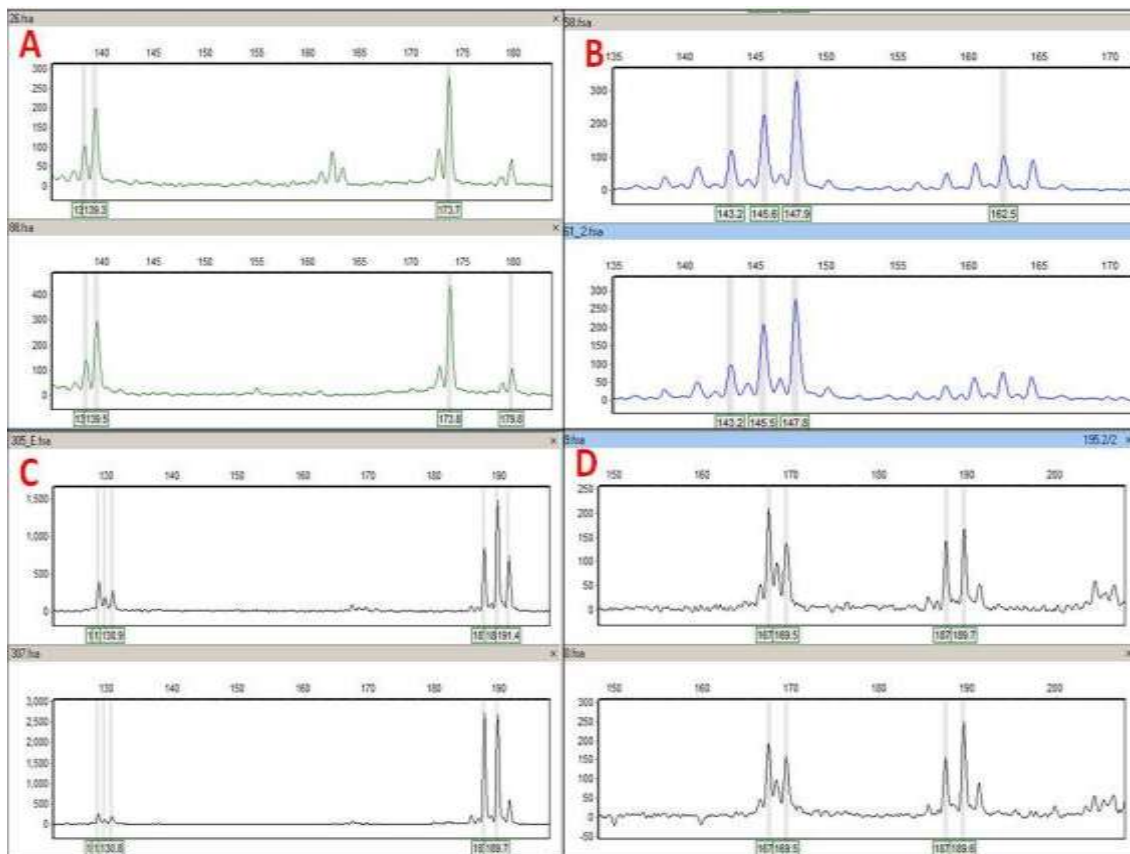


Figura 2. Eletroferogramas correspondentes aos alelos detectados em genotipagem semiautomática do loco CE9 nas quatro espécies: (A) = *P. bracteosa*; (B) = *P. laxiflora*; (C) = *P. pyramidalis*; (D) = *P. microphylla*, com os tamanhos dos alelos de cada loco determinado com o auxílio do programa GeneMarker

Acredita-se que, em virtude da utilização de primers desenvolvidos para *Caesalpinia echinata* existe uma dificuldade para adequá-los às condições de ampliações ideais em espécies diferentes, apesar de serem do mesmo gênero. Desta forma, o trabalho seguiu com cinco locos para *P. bracteosa*, *P. laxiflora*, *P. pyramidalis* e com quatro locos para *P. microphylla*.

O uso de conjuntos multiplex de marcadores microssatélites fluorescentes aumenta a capacidade de realização de genotipagem semi-automatizada de um grande número de amostras, permitindo a caracterização mais rápida de recursos genéticos, e com um menor dispêndio de reagentes.

A utilização de painéis multiplex permite a amplificação simultânea de alelos nos locos microssatélites selecionados, qualidade e repetibilidade dos produtos de PCR na análise de polimorfismo no sequenciador, alto conteúdo informativo (PIC), e diversidade gênica esperada dos marcadores selecionados, ou seja, esse painel multiplex possibilita a análise indireta de polimorfismo de DNA na região de vários genes selecionados (LACERDA, 2009).

Os parâmetros de diversidade genética intra-populacional foram estimados com uso do programa GDA versão 1.0 (Lewis; Zaykin, 2002): número médio de alelos por loco (A); diversidade gênica (H_e); heterozigosidade observada (H_o) e; coeficiente de endogamia (f). Para a paternidade foi utilizado o programa CERVUS.

Resultados

A faixa de alelos amplificados com os primers microssatélites variou de 120 pb a 290 pb, havendo faixas específicas de alelos para cada espécie (Tabela 2).

Os locos amplificados (CE9, CE10, CE11, CE13, CE14) mostraram-se polimórficos, exceto CE13 que não amplificou em *P. microphylla*. O número de alelos por loco (A) variou de 5 a 7 em *P. bracteosa* ($A=5,6$), de 3 a 8 em *P. laxiflora* ($A= 5,2$), de 2 a 8 em *P. pyramidalis* ($A=5,0$) e de 2 a 4 em *P. microphylla* ($A= 3,3$), o que é considerado alto dentro do N amostral utilizado neste trabalho. Os números efetivos de alelos por locos foram maiores que os

valores de A , indicando que alguns desses alelos têm alta frequência na população. As estimativas de diversidade gênica (H_e), heterozigidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia (f) foram obtidas com auxílio do programa GDA (Tabela 3).

Tabela 2. Marcação fluorescente, temperatura de anelamento (T_a) e amplitude alélica para *Poincianella bracteosa* (brac), *P. laxiflora* (laxi), *P. microphylla* (micr) e *P. pyramidalis* (pyra)

Loco	Marcação *	T_a (C°)	Amplitude alélica			
			brac	laxi	micr	pyra
CE 09	HEXA	49°C – 56 °C	130-210	128-188	130-170	130-190
CE 10	NED	52°C – 54°C	123-253	123-253	214-253	123-290
CE 11	6-FAM	52°C – 56°C	123-150	123-162	128-170	128-166
CE13	6-FAM	52°C	146-186	120-280	0**	186-202
CE 14	NED	54 °C	124-190	132-174	124-174	124-190

*Fluorocromos utilizados na marcação: NED = fluorescência verde; 6-FAM = fluorescência azul; HEXA = fluorescência amarela

**não houve amplificação de *P. microphylla* com o primer CE13

Tabela 3. Descrição de cada loco em quatro espécies de *Poincianella*, evidenciando-se as estimativas dos parâmetros de diversidade genética: número médio de alelos por loco (A), diversidade gênica (H_e), heterozigidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia(f).

Loco	<i>P. bracteosa</i>				<i>P. laxiflora</i>				<i>P. microphylla</i>				<i>P. pyramidalis</i>			
	A	H_e	H_o	f	A	H_e	H_o	f	A	H_e	H_o	f	A	H_e	H_o	F
CE 9	5	0,73	0,90	-0,25	5	0,75	0,85	-0,14	2	0,51	0,95	-0,89	6	0,56	0,93	-0,68
CE 10	7	0,83	0,57	0,32	6	0,62	0,33	0,47	3	0,62	0,75	-0,22	8	0,76	0,540,30	
CE 11	5	0,73	0,70	0,05	8	0,72	0,86	-0,20	4	0,66	0,61	-0,07	3	0,51	0,96	-0,9
CE 13	5	0,59	0,15	0,75	3	0,48	0,29	0,43	-	-	-	-	2	0,45	0,5	-0,1
CE 14	6	0,70	0,86	-0,21	4	0,70	1,0	-0,44	4	0,69	0,76	-0,12	6	0,56	0,430,23	

Os parâmetros de diversidade genética nas populações podem ser observado nas tabela 4. A população de *P. bracteosa* apresentou evidência de excesso de homozigotos ($H_e=0,72$; $H_o=0,64$), ao passo que, nas demais espécies, um excesso de heterozigotos foi verificado: *P. laxiflora* $H_e=0,65$ e $H_o=0,67$; *P. pyramidalis* $H_e=0,57$ e $H_o=0,67$; e *P. microphylla* $H_e=0,62$ e $H_o=0,77$. Novamente, *P. brateosa* distinguiu-se das demais por apresentar maior endogamia ($f=0,11$), enquanto as demais espécies apresentaram valores negativos de f , ou seja, considerados nulos. Na caracterização dos locos, CE13 e CE10 mostraram-se mais endogâmicos nas diferentes espécies.

Tabela 4. Estimativas dos parâmetros de diversidade genética para diferentes populações de *Poincianella*. Média do número de alelos por loco (A), estimativas da diversidade gênica (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia(f).

População	N	N'	A	He	Ho	f
<i>P. bracteosa</i>	19	19,0	5,60	0,72	0,64	0,11
<i>P. laxiflora</i>	22	18,4	5,00	0,65	0,68	-0,05
<i>P. pyramidalis</i>	57	45,6	5,00	0,57	0,68	-0,19
<i>P. microphylla</i>	20	16,5	3,25	0,62	0,77	-0,25

A longo prazo, a capacidade de uma espécie em responder adaptativamente às mudanças ambientais depende da sua variabilidade genética...desta forma, *P. bracteosa* mostrou que mesmo sendo encontrada em um local com mudanças antrópicas, ela pode resistir à erosão genética e manter sua variabilidade. Teve a maior riqueza alélica e manteve a sua variabilidade, apesar da endogamia. Para uma melhor visualização, com relação ao número de alelos por loco em cada espécie, o gráfico mostra que a maior riqueza alélica deu-se em *P. bracteosa* (Figura 3).

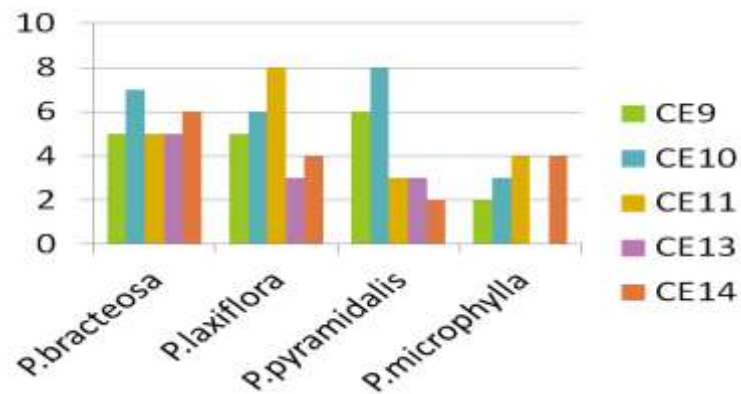


Figura 3. Estimativa de riqueza alélica para as quatro espécies de *Poincianella*. Com a utilização do software GDA.

Desta forma, assim como Melo (2005), considera-se a necessidade de conservar um grande número de populações e introduzir corredores ecológicos, de modo a permitir a troca de alelos, contribuindo para evitar a erosão genética da espécie e, assim, elaborar estratégias eficientes de conservação da espécie.

Em *P. pyramidalis*, 47 progênies, distribuídas em três famílias, foram submetidas ao teste de paternidade. Desse total, 15 progênies (31,9%) tiveram a determinação do genitor masculino (Tabela 5). Para quatro progênies (309K, 309M, 309N, 309P) foram atribuídos dois possíveis genitores masculinos, os quais apresentaram os mesmos alelos nos quatro locos genotipados. Esta análise demonstrou que nenhuma das progênies foi obtida por autofecundação.

Além disso, foram desprezados valores negativos para LOD score e para aqueles que não apresentaram confiabilidade para atribuição do genitor masculino.

Tabela 5. Análise de Paternidade de *P. pyramidalis* com 95% de confiança pelo teste de LOD.

Progênie	Genitor feminino	Locos	Genitor masculino atribuído	LOD score	Pair confidence
305C	305	4	307	1,19E+00	*
305D	305	4	307	1,19E+00	*
305E	305	4	307	1,76E+00	*
305F	305	4	307	1,19E+00	*
305G	305	4	307	1,19E+00	*
305H	305	4	307	1,19E+00	*
305I	305	4	307	1,19E+00	*
305J	305	4	307	1,19E+00	*
309A	309	4	307	1,63E+00	*
309D	309	4	307	1,63E+00	*
309J	309	4	190	1,63E+00	
309K	309	4	190	1,63E+00	
309K	309	4	191	1,63E+00	
309L	309	4	307	2,18E+00	
309M	309	4	190	1,63E+00	*
309M	309	4	191	1,63E+00	
309N	309	4	190	1,63E+00	
309N	309	4	191	1,63E+00	
309P	309	4	190	1,63E+00	
309P	309	4	191	1,63E+00	
309Q	309	4	307	1,18E+00	
309V	309	4	307	1,63E+00	*
309W	309	4	307	1,63E+00	
309X	309	4	307	1,63E+00	*
309Z	309	4	307	1,57E+00	*
306B	306	4	307	1,63E+00	*

*significativo.

Discussões

O número médio de alelos por loco (A) foi menor nessas quatro espécies (A=3,3; A= 5,6) do que em *C. echinata*, apresentado por Melo et al., 2007 (A=11,6) e por Sabóia (2013) (A=9,1). Provavelmente isso se deve a que os primers foram desenvolvidos para *C. echinata*, além do DNA que se mostra com concentração e qualidade diferentes entre espécimes, resultando, portanto, em ampliações diferenciadas para um mesmo loco (Dakin ; Avise, 2004). Ressalta-se ainda que o número de plantas genotipadas, bem como o número de locos no presente trabalho para cada espécie, foram menor que em *C. echinata*.

No entanto, considerando o total de amostras utilizadas, houve uma riqueza alélica que aponta que as sequências que flanqueiam esses locos encontram-se altamente conservadas, diminuindo a chances de mutação nos sítios de anelamento dos primers, com isso uma maior quantidade de alelos podem ser amplificados (YASODHA et al., 2005) para outras espécies de *Caesalpinia* e *Poincianella*.

Com relação à diversidade gênica, todas as espécies apresentaram variabilidade, porém, em *P. bracteosa* foi observado endogamia, o que pode ser uma resposta às perturbações antrópicas, sofridas ao longo dos anos que acarreta em perda de alelos, presença de alelos nulos ou ainda a seleção contra indivíduos heterozigotos. Tal contraste também foi observado no trabalho de Sabóia (2013), que mostrou uma alta diversidade gênica, porém traços de endogamia, ocasionados, possivelmente pela fragmentação e consequente redução de indivíduos heterozigotos. Resultado semelhante foi encontrado por Defavari et al. (2009) ao analisar a diversidade genética de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne, uma árvore Leguminosa.

Desta forma, o conhecimento dos efeitos de tais perturbações sobre os processos ecológicos e evolutivos ganha importância uma vez que a Caatinga se apresenta como um importante centro de endemismo com espécies ameaçadas restritas a formações locais.

O sistema reprodutivo já foi estudado em pelo menos 451 espécies para a família Leguminosae, com 152 (33,7%) destas apresentando

autoincompatibilidade (ARROYO, 1981; KILL e DRUMOND 2001, FREITAS e OLIVEIRA 2002, COSTA et al. 2003).

Há ainda grande lacuna de conhecimento quanto ao sistema reprodutivo com relação às espécies de Caesalpinioideae (Lewis et al., 2000). Entre as 84 espécies dessa subfamília que ocorrem na Caatinga (GIULIETTI et al., 2004), apenas cinco (5,9%) foram analisadas quanto ao sistema reprodutivo (Silva 2004), sendo duas auto-incompatíveis, das quais, uma (*C. calycina*) apresenta auto-incompatibilidade de ação tardia (LEWIS et al., 2000).

Dentre as espécies autoincompatíveis que foram analisadas quanto ao crescimento de tubos polínicos a *Caesalpinia calycina* (LEWIS & GIBBS 1999), *C. echinata* (BORGES et al., 2008), *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Gibbs et al. 1999) e *Senna sylvestris* (Vell.) H. S. Irwin & Barneby (Carvalho & Oliveira 2003) apresentaram auto-incompatibilidade de ação tardia.

Leite e Machado (2009) avaliaram o sistema reprodutivo e indicaram que *P. pyramidalis* é auto-incompatível, havendo formação de frutos apenas em polinização cruzada manual e em polinização natural (controle).

Dentre as 47 progênies, 15 tiveram a paternidade atribuída a um genitor masculino com confiabilidade de 95%. Como 16 plantas adultas foram genotipadas, isso indica que outros indivíduos presentes neste fragmento foram doadores de pólen para a outra parte das progênies analisadas.

Seguindo essa perspectiva, torna-se evidente a importância de integrar a esses conhecimentos uma abordagem genética com o objetivo de ampliar a compreensão de processos naturais sob a influência da ação humana. Para isso, a abordagem genética populacional faz inferências através da análise de populações geneticamente distintas ou não.

Conclusões

Os primers SSR transferidos de *C. echinata* para espécies de *Poincianella* detectam polimorfismos genéticos nessas espécies e são úteis para estudos de suas populações.

As quatro espécies analisadas apresentam variabilidade genética evidenciada pelos valores de H_e .

Há fluxo gênico entre as plantas de *P. pyramidalis*, suas progênes originaram-se de fecundação cruzada, compatível com a autoincompatibilidade descrita para essa espécie.

Referências.

ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill RM & P.H. Raven, eds.). Kew, London, p.723-771, 1981.

BARREIRA, S. Diversidade genética em população natural de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish como base para o manejo florestal. Tese (Doutorado em Recursos Florestais). 73 p. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BORGES, L.A.A.P., SOBRINHO, M.S. & LOPES, A.V. Phenology, pollination, and breeding system of the threatened tree *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae), and a review of studies on the reproductive biology in the genus. *Flora* .204:111-130. 2008.

COSTA, R.B., CONTINI, A.Z. & MELO, E.S.P. Sistema reprodutivo de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. e *Vochysia haenkiana* (Spreng.) Mart. em fragmento de cerrado na Chapada dos Guimarães – MT. *Ciência Rural* 33:305-310, 2003.

DAKIN, E. E.; AVISE, J. C. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 93, p. 504-509. 2004.

DEFAVARI, G.R. TARAIZI, R. MORENO, M.A. FERRAZ, E.M. GANDARA, F.B. Kageyama, P.Y. Estrutura genética espacial intrapopulacional de *Hymenaea sigonocarpa* Mar. Ex *Hayne nea* Estação Ecológica de Itirapina, SP. *Scientia Forestalis (Brazil)*.v.37, n. 81, p. 89-98, 2009.

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

EGITO, A.A.; PAIVA, S.R.; MAMANI, E.V.; ALBUQUERQUE, M.S.M et al . (2004) Variabilidade Genética de raças bovinas baseada em Marcadores STR. V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal.

FERRAZ, J. S. F.; FERREIRA, R. L. C.; SANTOS, M. V. F.; MEUNIER, I. M. J. Usos de especies leñosas de la caatinga del municipio de Floresta en Pernambuco, Brasil: conocimiento de los indios de la aldea Travessão do Ouro. *Bosque*, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2012.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D. ; BRISCOE, D. A. Fundamentos da genética da Conservação. Editora da Sociedade Brasileira de genética, p.13-20, 2008.

FREITAS, C.V. & OLIVEIRA, P.E. Biologia reprodutiva de *Copaifera lagsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica** 25: 311-321, 2002.

GANDARA, P. Y.; KAGEYAMA, P. Y. Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **IPEF**, v. 12, n. 32, p. 65-70, 1998.

GIBBS, P.E., OLIVEIRA, P.E. & BIANCHI, M.B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *International Journal of Plant Science* 160:72-78, 1999.

GIULIETTI AM, Neta ALB, Castro AAJF, Gamarra-Rojas CFL, Sampaio EVSB, Virgínio JF, Queiroz LP, Figueiredo MA, Rodal MJN, Barbosa MRV, Harley RM, Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: Silva JMC, Tabarelli M & Fonseca MT (Orgs.). Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004.

GIULIETTI, A.M., R.M. HARLEY, L.P. QUEIROZ, M.R.V. BARBOSA, A.L. BOCAGE NETA & M.A. FIGUEIREDO. Plantas endêmicas da caatinga. p.103-115 In: Vegetação e flora das caatingas (SAMPAIO, E.V.S.B., A.M.GIULIETTI, J. VIRGÍNIO & C.F.L. GAMARRA-ROJAS, ed.). APNE / CNIP, Recife, PE, 2002.

http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3895 . Acesso: August 2015

INPE, 2015. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Brasil, 2015.

KILL, L.H.P.; DRUMOND, M.A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. (Fabaceae-Papilionoideae) na região de Petrolina. *Ciência Rural*. 31p.597-601. Pernambuco, 2001.

LACERDA, T. S. Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites para programas de melhoramento assistido para qualidade de grãos em arroz (*Oryza sativa* L.). Dissertação de mestrado. Universidade Católica de Brasília. Brasília, 2009.

LEITE, A.V.; MACHADO, I.C. Biologia reprodutiva da “catingueira” (*Caesalpinia pyramidalis* Tul., Leguminosae-Caesalpinioideae), uma espécie endêmica da Caatinga1 **Revista Brasil. Bot.**, v.32, n.1, p.79-88, 2009.

LEWIS, G.; GIBBS, P. Reproductive biology of *Caesalpinia calycina* and *C. pluviosa* (Leguminosae) of the caatinga of north-eastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**. 217:43-53, 1999.

LEWIS, G.P., SIMPSON, B.B. & NEFF, J.L. Progress in understanding the reproductive biology of the Caesalpinioideae (Leguminosae). In *Advances in legume systematics* (P.S. Herendeen & A. Bruneau, eds.). **Royal Botanical Garden**, Kew, p.65-78, 2000.

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the World.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data. GDA Version 1.0** (d15), 2002.

London: Royal Botanic Gardens, Kew, 577 p, 2005.

- MACHADO, I.C., LOPES, A.V. ; SAZIMA, M.. Plant sexual systems and a review on breeding system studies in the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. **Annals of Botany**. 97:277-287. 2006.
- MELO, S.C. O., GAIOTTO, F. A., CUPERTINO, F. B., CORRÊA, R. X., REIS, A. M. M., GRATTAPAGLIA D., BRONDAN, I R. P.V. Microsatellite markers for *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), a tree that named a country. **Conservation Genetics** .v. 8, p. 1269–1271, 2007.
- MENEZES, M.P.C.; MARTINEZ, A.M.; RIBEIRO, M.N.; FILHO, E.C.P. & BERMEJO, J.V.D. (2006) Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35(4): 1336 – 1341.
- QUEIROZ, L. P. de. Leguminosas da caatinga. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 467p. 2009.
- RODRIGUES, P.S.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. Karyomorphology of *Caesalpinia* Species (Caesalpinioideae: Fabaceae) from Caatinga and Mata Atlantica Biomes of Brazil. **Journal of Plant Studies**; v. 1 p. 82-91. 2012.
- RODRIGUES, P.S.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. karyomorphology of *Caesalpinia* s.l. species (Caesalpinioideae: Leguminosae) and comparative analysis of karyotype asymmetry. **Genetis and Molecular Research**, 2013. In press.
- SABÓIA, E.N., **Diversidade genética de pau-brasil e amplificação cruzada de espécies de *Caesalpinia* com marcadores microssatélites**. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) 49 p. Programa de Pós - Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus, 2013.
- SCHRIRE, B.D.; Lewis, G.P.; Lavin, M. Biogeography of the Leguminosae. Pp. 21-54. In: G.P. Lewis; B. Schrire; B. Mackinder & M. Lock (eds.). **Legumes of the World**. Kew, Royal Botanic Gardens, 2005
- YASODHA, R.; HOSH, M. G.; SUMATHI, R.; GURUMURTHY, K. Cross-species amplification of eucalyptus SSR markers in *Casuarinaceae*. **Acta. Bot. Croat.** v. 64, p. 115–120, 2005.

4. CONCLUSÕES GERAIS

No presente trabalho, a amplificação de DNA com mesmos primers transferidos de *C. echinata*, em quatro diferentes espécies de *Poincianella* é consistente com a história evolutiva dessas espécies, em que o gênero aparece como unificador das *Caesalpinias* s.l. que ocorrem na Caatinga.

A diversidade genética intrapopulacional presentes em *P. bracteosa*, *P. laxiflora*, *P. microphyla* e *P. Pyramidalis* habilita essas populações examinadas como adequadas para conservação da espécie ou como fonte de material para conservação *ex situ*, bem como para produção de sementes para uso em programa de recuperação de áreas degradadas.

Até o momento, só haviam estudos que tinham abordado questões relativas à genética de populações de *P. pyramidalis* e, portanto, com as análises voltadas para populações dessa espécie. O presente trabalho traz informações que podem servir de subsidio para futuro estudos detalhados em *P. laxiflora*, *P. microphylla* e *P. pyramidalis*, como por exemplo, amostrar progênies e adultos de todas as outras três espécies, para confirmar o sistema reprodutivo.

5. REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

- ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. **Science**, Washington, v.281, p.103-105, 1998.
- ANDERSEN, W.R.; FAIRBANKS, D.J. Molecular markers: important tools for plant genetic resource characterization. **Diversity**, v.6, n.3/4, p.51-53, 1990.
- ANDRADE, L. A. et al. Análise da cobertura de duas fitofisionomia de caatinga, com diferentes históricos de uso no município de São João do Cariri, estado da Paraíba. **Cerne**, v.11, n.3, p.253-262, 2005.
- ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. A.; CASTRO, C. C. Dynamics of the Brazilian Caatinga – a revision concerning the plants, environments and people. **Functional Ecosystems and communities**, v.1, p.15-29, 2007.
- AVISE, J. C. Perspective: conservation genetics enters the genomics era. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 11, p.665-669, 2010.
- CABALLERO, A.; RODRÍGUEZ RAMILO, S.T.; ÁVILA, V.; FERNÁNDEZ, J. Management of genetic diversity on subdivided population in conservation programmes. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v11, p. 409-419, 2010.
- CASTELLETTI, C.H.M.; SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M.; SANTOS, A.M.M. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: SILVA JMC, TABARELLI M & FONSECA MT (Orgs.). Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004.
- CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, S. Flores da caatinga - Caatinga flowers Instituto Nacional do Semiárido Campina Grande. 116p. Edição Bilingue, 2010.
- DAMASCENA, L. S. Caracterização da Savana Estépica Parque no Baixo e Médio São Francisco, Bahia, Brasil. Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Modelagem em Ciências da Terra e Meio Ambiente. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.
- DAMIÃO FILHO, C.F. **Morfologia vegetal**. Jaboticabal: FUNEP; UNESP, 243p, 1993.

- DAYANANDAN, S.; DOLE, J.; KESSELI, R. Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (*Meliaceae*). **Molecular Ecology**, v. 8, p. 1585-1592, 1999.
- DICK, C.W. Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v.268, p.2391-2396, 2001.
- FIGUEIRÔA, J. M. et al. (Eds.)Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife: **APNE**, 2005. p.101-133
- FIGUEIRÔA, J. M. et al. Effects of cutting regimes in the dry and wet season on survival and sprouting of woody species from the semi-arid caatinga of northeast Brazil.**Forest Ecology and Management**, v.229, n.1/3, p.294-303, 2006.
- FRANCELINO, M. R. et al. Contribuição da caatinga na sustentabilidade de projetos de assentamentos no sertão norte-rio-grandense.**Revista Árvore**, v.27, n.1, p.79-86, 2003.
- FRANKHAM, R. Quantitative genetics in conservation biology. **Genetic Research Camb.**, v. 74, p. 237-244, 1999.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D. ; BRISCOE, D. A. **Fundamentos da genética da Conservação**. Editora da Sociedade Brasileira de genética, p.13-20, 2008.
- FUTUYMA, D.J. **Biologia Evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992, 613 p.
- GASSON, P., Warner, K., Lewis, G. Wood anatomy of *Caesalpinia* s.s., *Coulteria*, *Erythrostemon*, *Guilandina*, *Libidibia*, *Mezoneuron*, *Poincianella*, *Pomaria* and *Tara* (Leguminosae, Caesalpinioideae, Caesalpinieae). **IAWA Journal**, 30 (3),p. 247-276. 2009.
- GAUDEUL, M.; TABERLET, P.; TILL-BOTTRAUD, I. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology* v. 9: p. 1625-1637, 2000.
- GIL, P.R. Wilderness – Earth's cast wild places. **CEMEX**, México, 2002.
- GONZAGA, C.J. Levantamento da Vegetação Arbustiva Arbórea de um Fragmento de Caatinga, Localizada em Castro Alves- Ba. Monografia apresentada para obtenção do título de Engenheiro Florestal pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2010.
- HAMILTON, M.B. Tropical tree gene flow and seed dispersal. **Nature**, London, v.401, p.129-30, 1999.
- HAMRICK, J.L.;GODT, M.J.W.; MURAWSKI,D.A.; LOVELESS,M.D. Correlations between Species Traits and Allozyme Diversity: Implication for Conservation Biology. In: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. (Eds) Genetics and Conservation of Rare Plants Oxford University Press, **Oxford**. p.75-86, 1991.
- IUCN, 2013 e 2015. Red List of Threatened species. Disponível em: <http://www.iuncredlist.org>. Cited on August 07 2015

- JESUS, C G. Identificação de plantas utilizadas como medicinais e levantamento florístico e fitossociológico e em áreas de fundo de pasto no município de Curaçá – Bahia. Dissertação de mestrado. 92f. Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2013.
- KILL et al. Caatinga: flora e fauna ameaçadas de extinção. **Revista Mensagem doce**. n100. Art. 14, 2009.
- LEAL, I.R., TABARELLI, M. & SILVA, J.M.C. Ecologia e conservação da Caatinga. Editora Universitária, **UFPE**, Recife, 2003
- LEITE, A.V.; MACHADO, I.C. Biologia reprodutiva da “catingueira” (*Caesalpinia pyramidalis* Tul., Leguminosae-Caesalpinioideae), uma espécie endêmica da Caatinga1 **Revista Brasil. Bot.**, v.32, n.1, p.79-88, 2009.
- LEWIS, G. P. *Caesalpinia*, a revision of the Poincianella – Erythrostemon group. Kew: **Royal Botanic Gardens**. p. 233.1998.
- LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. (Eds). Legumes of the World. Kew: **Royal Botanical Garden**. 592 p. 2005.
- LOIOLA, M.I.B.; PATERNO, G.B.C.; DINIZ, J.A; CALADO, J.F.; OLIVEIRA A.C.P. Leguminosas e seu potencial de uso em comunidades rurais de São Miguel do Gostoso-RN. **Revista Caatinga**, Mossoró, RN. 23 (3): 59-70, 2010.
- MACHADO, I.C., LOPES, A.V. ; SAZIMA, M.. Plant sexual systems and a review on breeding system studies in the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. **Annals of Botany**. 97:277-287. 2006.
- MAIA, G.N. Caatinga, árvores e arbustos e suas utilidades. Fortaleza, **Leitura & Arte**, 2004.
- MELO, S.C. Diversidade, Estrutura Genética e estimativa de fluxo gênico de *Caesalpinia echinata* (PAU-BRASIL) por meio de marcadores microsatélites. Dissertação de mestrado(Mestrado em Genética e Biologia Molecular). 89f. Universidade Estadual de Santa Cruz.Ilhéus, 2005.
- MELO, S.C. O., GAIOTTO, F. A., CUPERTINO, F. B., CORRÊA, R. X., REIS, A. M. M., GRATTAPAGLIA D., BRONDAN, I R. P.V. Microsatellite markers for *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), a tree that named a country. **Conservation Genetics** .v. 8, p. 1269–1271, 2007.
- MMA- Ministério do Meio Ambiente. Monitoramento dos biomas brasileiros: Bioma Caatinga. Brasília, 2013.
- MURAWSKI, D.A.; GUNATILLEKE, I.A.U.N.; BAWA, K.S. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka. **Conservation Biology**, Cambridge, v.8, p.997-1002, 1994.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 70, p. 3321-3323, 1973.
- NETO, J.D.G; SEBEN, A.M; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade genética de uma população “ex situ” de *Caesalpinia echinata* Lam. **Scientia Forestalis**. n. 69, p.125-133, 2005.
- OBAYASHI, K.; TSUMARA, Y.; IHARA-UNINO, T.; NIYAMA, K.; TANOUCHI, H.; SYAMA, Y.; WASHITANI, I., LEE, C.; LEE, S.L.; MUHAMMAD, N. Genetic

diversity and outcrossing rate between undisturbed and selective logged forest of *Shorea curtissi* using microsatellite DNA analysis. **International Journal of Plant Science**, Chicago, v.163, n.1, p.151-158, 2002.

OLIVEIRA, A.F.; CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Rev. Br. Bot.** v.25 (3). P. 331-338, 2002.

OUBORG, N. J.; PIQUOT, Y.; VAN GROENENDAEL, J. M. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of ecology*. 87, p. 551-568. 1999.

PARDINI, R. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. **Biodiversity and Conservation**. 13, p. 2567-2586. 2004.

PATERNIO, G. B. C.; GANADE, G.; FILHO, J. A. S. Plantas enfermeiras e seu potencial para restauração ecológica da Caatinga. In: 62ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC). Natal. Resumos. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

PEDROSA A.; SCHWEIZER D & Guerra M Cytological heterozygosity and the hybrid origin of sweet Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Theoretical and Applied Genetics** 100: 361-367., 2000.

PEREIRA, M. P. M.; SILVA, T. R. S.; FERREIRA, C. P. Padronização farmacobotânica das folhas de *Poincianella microphylla*. In: *X Congresso Brasileiro de Farmacognosia. V Simpósio de plantas medicinais do Vale do São Francisco. Juazeiro. Resumos. Universidade do Vale do São Francisco, 2015.*

PRADO, D.E. As Caatingas da América do Sul. In **Ecologia e conservação da Caatinga** (I.R. Leal, M. Tabarelli & J.M.C. Silva, eds.). Editora Universitária, UFPE, Recife, p.3-73, 2003.

QUEIROZ LP. Distribuição das espécies de Leguminosae na Caatinga. In: Sampaio EVSB, Giulietti AM, Virgínio J & Gamarra-Rojas CFL (Eds.). **Vegetação e flora das caatingas**. APNE / CNIP, Recife, PE, 2002.

QUEIROZ, L. P. de. Leguminosas da caatinga. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 467p. 2009.

QUEIROZ, M A. Recursos Genéticos Vegetais da Caatinga para o Desenvolvimento do Semiárido Brasileiro. **Revista Brasileira de Geografia Física**. UFPE. v. 6, 2011.

RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. **Trends-in-Genetics**, v.9, n.8, p.275-280, 1993.

RAJORA, O.P.; PLUHAR, S.A. Genetic diversity impacts of forest fire, forest harvesting, and alternative reforestation practices in black spruce (*Picea mariana*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.106, p.1203-1212, 2003.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, v.47: 35-52, 1981.

RODAL, M.J.N.; MELO, A.L. Levantamento preliminar das espécies lenhosas da Caatinga de Pernambuco. In *Plantas do Nordeste. Anais do I Workshop*

- Geral (F.D. Araujo, H.D.V. Prendergast & S.J. Mayo, eds.). **Royal Botanical Garden**, Kew, p.53-62, 1999.
- RODRIGUES, P.S.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. Karyomorphology and karyotype asymmetry in the South American Caesalpiniaspecies (Leguminosae and Caesalpinioideae). **Genetis and Molecular Research**. v13 (4): 8278-8293, 2014.
- RODRIGUES, P.S.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. Karyomorphology of Caesalpinia Species (Caesalpinioideae: Fabaceae) from Caatinga and Mata Atlantica Biomes of Brazil. **Journal of Plant Studies**; v. 1 p. 82-91. 2012.
- RODRIGUES, P.S.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. karyomorphology of *Caesalpinia* s.l. species (Caesalpinioideae: Leguminosae) and comparative analysis of karyotype asymmetry. **Genetis and Molecular Research**, 2013. In press.
- SACCHERI, I.; KUUSSAARI, M.; KANKARE, M. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. **Nature**. v. 392: p.491-494, 1998.
- SAMPAIO, E. V. S. B. et al. Regeneração da vegetação da caatinga após corte e queima em Serra Talhada, PE. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.33, n.5, p.621-632, 1998.
- SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C.; FIGUEIRÔA, J. M.; SANTOS JUNIOR, A. G. Espécies do Semiárido baiano com potencial econômico. **Magistra**, v. 18, p. 6-8, 2006.
- SAMPAIO, E.V.S.B., A. SOUTO, M.J.N. RODAL, A.A.J.F. CASTRO & C. HAZIN. Caatingas e cerrados do NE: biodiversidade e ação antrópica. In: Conferência Nacional e Seminário Latino-Americano de Desertificação. ESQUEL/PNUD/Governo do Ceará/BNB. 15p. Fortaleza, CE, 1994.
- SANTOS, J. P.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Richness and distribution of useful woody plants in the semi-arid region of northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v.72, n.5, p.652-663, 2008.
- SCHRIRE, B.D.; LEWIS, G.P.; LAVIN, M. Biogeography of the Leguminosae. Pp. 21-54. In: G.P. Lewis; B. Schrire; B. Mackinder & M. Lock (eds.). *Legumes of the World*. Kew, **Royal Botanic Gardens**, 2005.
- SEBBENN, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.14, n.2, p.115-132, 2002.
- SEBBENN, A.M.; SEOANE, C.E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; LACERDA, C.M.B. Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.13, n.2, p.93-113, 2001a.
- SEOANE, C.E.C.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.13, n.1, p.19-26, 2001
- SEOANE, C.E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; RIBEIRO, A.; MATIAS, R.; REIS, M. S.; BAWA, K.; SEBBENN, A.M. Efeitos da fragmentação florestal sobre a

- imigração de sementes e a estrutura genética temporal de populações de *Euterpe edulis* M. **Revista do Instituto Florestal**, v. 17, N.1, P. 23 – 43, 2005.
- SHAN, F.; YAN, G.; PLUMMER, J. A. Karyotype evolution in the genus *Boronia* (Rutaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 142, p. 309-320, 2003.
- SILVA L.N.; TRENTIN Dda S.; ZIMMER K.R.; TRETER J.; BRANDELLI C.L.; FRASSON A.P.; TASCA T.; Da SILVA A.G.; Da SILVA M.V.; MACEDO A.J.; Anti-infective effects of Brazilian Caatinga plants against pathogenic bacterial biofilm formation. *Pharmaceutical Biology*, v. 53, n. 3, p. 464-468, 2014.
- SILVA, V.C. Biologia floral e sistema de reprodução de duas espécies de *Chamaecrista* (Leguminosae) ocorrentes em Buíque-PE. **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.
- TABARELLI M.; SILVA JMC. Áreas e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. In: Leal IR, 2003.
- VILATERSANA R, Susanna A & Garcia-Jacas N Karyology, generic delineation and dysploidy in the genera *Carduncellus*, *Carthamus* and *Phonus* (Asteraceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 134: 425-438., 2000.
- VIRGINIO, J. F.; PAREYN, F. G. C. Situação da cobertura florestal no Nordeste. In: SAMPAIO, E. V. S. B. et al. **Vegetação & Flora da Caatinga**. Recife: APNE, p.41-68, 2002.
- WEIR, B.S. **Genetic Data Analysis II**. Sunderland: Sinauer Associates, 445 p.1996.
- WILSON, E.O. **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 657 p. 1997.
- YOUNG, A, BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends Ecology Evolution**. v. 11, p. 413-418, 1996.
- YOUNG, A.G.; BOYLE, T.T. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.G.; BOSHIER, D.; BOYLE, T.J. (Ed.) *Forest Conservation Genetics*. Oxford, CABI. p.123-133, 2000.