

Impacto do corte seletivo na diversidade genética de quatro espécies madeiras amazônicas com diferentes características ecológicas e reprodutivas

Christina Cléo Vinson¹; Vânia Cristina Rennó Azevedo²; Marivana Borges Silva³; Ana Yamaguishi Ciampi²; Alexandre Sebbenn⁴; Milton Kanashiro⁵ & Lúcia Helena de Oliveira Wadt⁶

¹Doutoranda da University of Oxford; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (azevedovcr@cenargen.embrapa.br); ³Universidade Federal do Pará; ⁴Instituto Florestal de São Paulo; ⁵Embrapa Amazônia Oriental; ⁶Embrapa Acre.

1. Introdução

A exploração seletiva de árvores madeiras tem um impacto direto na demografia e na genética das populações exploradas (Lowe *et al.*, 2005; Sebbenn *et al.*, 2007). Tal impacto pode causar a perda de genes específicos, alteração na frequência dos genes, e pode induzir mudanças nos padrões da diversidade genética (tal como heterozigosidade), sistema de cruzamento, fluxo gênico e tamanho efetivo populacional (Rajora, 2000; Degen *et al.*, 2006; Sebbenn *et al.*, 2007; Lacerda *et al.*, 2008). Isto pode ter importante consequência na viabilidade em longo prazo das populações das árvores exploradas (Lowe *et al.*, 2005). Com a finalidade de contribuir para o uso sustentável da floresta, este projeto visa estudar o efeito do corte seletivo de árvores na diversidade genética de quatro espécies com características ecológica e reprodutiva contrastantes: *Bagassa guianensis* (Moraceae), *Dipteryx odorata* (Leguminosae), *Jacaranda copaia* (Bignoniaceae) e *Manilkara huberi* (Sapotaceae). *Dipteryx odorata*, *J. copaia* e *M. huberi* são hermafroditas e polinizadas por insetos; *B. guianensis* é dióica e polinizada principalmente pelo vento, com a participação de diminutos insetos. *Dipterix odorata*, *M. huberi* e *B. guianensis* possuem suas sementes dispersas por gravidade e por animais, como roedores, morcegos e vários vertebrados. Sementes de *J. copaia* são dispersas pelo vento. *Dipterix odorata* e *B. guianensis* possuem baixa densidade populacional na área de estudo, 0,17 e 0,34 indivíduos (>10 cm de DAP - diâmetro a altura do peito) por hectare

respectivamente; em contraste com *J. copaia* e *M. huberi* com 1,75 e 3,35 indivíduos por hectare, respectivamente. *Jacaranda copaia* e *B. guianensis* são colonizadoras de clareiras, enquanto *M. huberi* e *D. odorata* são espécies clímax de crescimento lento e rápido, respectivamente. *Dipterix odorata* é tetraplóide enquanto as outras são diplóides. A aplicação das informações geradas para essas espécies em modelos de simulação genética que visem elucidar os processos e as conseqüências genéticas associadas com a exploração e fragmentação florestal ao longo do tempo, é um dos principais benefícios que estão sendo obtidos (Sebbenn *et al.*, 2008) pode orientar a adoção de critérios sustentáveis nas operações relativas ao inventário florestal e planejamento da exploração.

2. Métodos

A coleta de material foi realizada numa parcela experimental de 500 hectares sob monitoramento na Floresta Nacional do Tapajós (FLONA), Belterra, PA, na altura do km 83 da BR 163, Rodovia Santarém-Cuiabá. As coletas foram realizadas de acordo com o descrito na Tabela I.

Tabela I. Relação da amostragem objeto deste estudo, por geração e espécie.

	Adultos	Regenerantes	Descendentes pré-exploração (2003-2004)		Descendentes pós-exploração (2006-2008)	
			famílias	semente/família	famílias	semente/família
<i>D. odorata</i>	77	-	16	24-30	12	24-30
<i>J. copaia</i>	300	-	22	24-30	32	24-30
<i>B. guianensis</i>	92	-	18	24-30	8	14-36
<i>M. huberi</i>	481	88	27	30	18	12-30

Análises laboratoriais e análise dos dados: A extração do DNA genômico foi realizada de acordo com o procedimento de CTAB 2% adaptado por Machado *et al.* (2002). Para as análises genéticas foram utilizados sete marcadores microsatélites para *D. odorata*, cinco para *J. copaia*, sete para *M. huberi* e seis para *B. guianensis*. Para as espécies diplóides (*J. copaia*, *M. huberi*, e *B. guianensis*) as seguintes estimativas foram obtidas: Heterozigosidade esperada (*He*), Heterozigosidade observada (*Ho*), e Índice de fixação (*f*), estimados utilizando o programa GDA – *Genetic Data Analysis*

versão 1.0 (Lewis & Zaykin, 1997), além da estrutura genética espacial utilizando o programa SPAGeDi – versão 1.1 (Hardy & Vekemans, 2002, 2003). As análises do sistema de reprodução foram baseadas no modelo misto de reprodução utilizando o programa MLTR (Ritland, 2004), usando o método de máxima verossimilhança. A análise direta do fluxo gênico via pólen foi obtida usando análise de paternidade, através do programa CERVUS 2.0 (Marshall *et al.*, 1998). O fluxo gênico via pólen foi também estimado indiretamente através de uma avaliação na estrutura de progênies por TWOGENER análises (Austerlitz & Smouse, 2001; Smouse *et al.*, 2001). Pela interpretação dos alelos de *D. odorata* concluiu-se de que se trata de uma espécie \square etraplóide. Genótipos de *D. odorata* foram analisados com base em estatística fenotípica utilizando-se o programa FDASH (Obbard, 2004). Para os cálculos de distâncias do fluxo de pólen, criamos um programa chamado Orchard (Spielmann *et al.*, Pers. Comm) para análise de paternidade.

3. Resultados

As seguintes estimativas foram obtidas para *J. copaia*: $He = 0,84$, $0,83$ e $0,84$ para os adultos, antes e após o corte das árvores, respectivamente. O índice da fixação para os três grupos está próximo de zero ($f = 0,028$, $0,020$ e $0,022$). A divergência genética (θ) entre as três gerações apresenta-se baixa ($0,004$) e consistente entre os locos (CI 95%). Portanto, não houve diferença após o corte das árvores. *Dipteryx odorata* apresentou um valor médio de 16 alelos/locos e uma diversidade genotípica elevada entre os locos, variando de $0,91$ a $0,98$. Para *B. guianensis*, de acordo com o número total de alelos por loco, a exploração madeireira de 61% da população adulta causou a perda de três alelos (8,3%), os quais eram de baixa frequência ($0,008$ - $0,037$) e outro alelo comum passou a ter baixa frequência. Um alelo comum passou a ter baixa frequência. No entanto, os alelos perdidos da população adulta foram encontrados nos juvenis e nas progênies, onde tiveram baixa frequência ($0,029$ - $0,071$). A análise da estrutura genética espacial na população reprodutiva de *B. guianensis* antes da exploração detectou significativa estrutura em distâncias de até 300 metros, com o coeficiente de coancestria próximo ao esperado entre primos

(0,0625). Entretanto, após a exploração, a população total (árvores reprodutivas e juvenis) não mostram estrutura genética espacial, sugerindo que a exploração rompe com a prévia estrutura genética. Em *M. huberi*, para adultos, regenerantes e descendentes (pré e pós exploração), respectivamente, as seguintes estimativas foram obtidas: $H_e = 0,867, 0,840, 0,811$ e $0,654$. Os índices de fixação para as três primeiras gerações foram significativamente diferentes de zero ($f = 0,221, 0,303$ e $0,237$), porém não estatisticamente diferentes entre si (IC 95%). O índice de fixação da geração pós-exploração ($f = 0,069$) foi significativamente diferente dos demais, entretanto, não diferente de zero. A divergência genética (θ) entre as gerações foi baixa para a média dos locos ($0,018$), mas consistente (IC 95%). A análise de distribuição espacial de genótipos detectou a existência de estruturação genética espacial significativa a uma distância de aproximadamente 450 metros de raio. As taxas de cruzamento multiloco apresentam-se altas para *J. copaia*, $0,99$ e $0,97$ antes e após o corte, respectivamente, e não é significativamente diferente entre as populações de sementes antes e após o corte. Para *M. huberi*, a estimativa da taxa de cruzamento multiloco (t_m), que é a taxa de cruzamento total da população foi alta ($0,98 \pm 0,111$) e a uniloco (t_s) que é a taxa de cruzamento entre indivíduos não parentes, por sua vez, foi menor ($0,710 \pm 0,042$) e significativamente diferente da multiloco (IC 95%). A análise da paternidade para *J. copaia*, usando um nível de confiança de 95%, foi estimada de um total de 943 sementes (285 sementes antes e 658 sementes após o corte). A proporção de doadores do pólen identificados dentro da área foi de 46% ($\pm 11\%$) antes do corte das árvores e 55% ($\pm 12\%$) após o corte. Os resultados pré-exploração mostram uma distância média de 523 m ($\pm 180,23$ m), com mínima de 189,66 m ($\pm 156,05$ m) e máxima de 1001,46m ($\pm 355,26$ m). Os resultados após o corte das árvores mostram distância média 456m ($\pm 173,08$ m), distância mínima de 143,4 m ($\pm 95,0$ m) e distância máxima de 1014,9 m ($\pm 372,4$ m). Os testes estatísticos mostraram não haver diferença significativa para distâncias do fluxo do pólen antes e após a exploração. Para *M. huberi*, a distância média de fluxo de pólen (fluxo gênico) estimada por análise com o *software* Two-Gener foi de 49,5 metros com desvio padrão da dispersão de pólen de 0,69 m, indicando que a

dispersão de pólen da espécie nessa área de floresta natural é restrita. A estimativa da distância média entre as mães foi de 739 metros e a densidade de árvores reprodutivas por hectare (d) foi igual a 1,9. O $\phi \Phi_{it}$ global que mede a divergência genética do pólen cruzado entre matrizes foi de 0,138. *Dipteryx odorata* apresenta menos doadores de pólen dentro da área quando comparada a outras espécies. A proporção de doadores do pólen identificados dentro da área foi de 31% ($\pm 17\%$) antes do corte das árvores e 16% ($\pm 10\%$) após o corte. O pólen dispersou-se por longas distâncias tanto antes quanto após o corte. Os resultados pré exploração mostram uma distância média de 1000 m (± 400 m) e 650 m (± 400 m) antes e após o corte das árvores, respectivamente. Testes estatísticos demonstram que há uma diferença significativa na proporção de doadores dentro da área e nas distâncias do fluxo do pólen antes e depois do corte: Há menos doadores dentro da área após o corte e as distâncias do fluxo do pólen também diminuíram após o corte. Uma razão possível é que a assincronia na florescência de *D. odorata* impõe limitações à reprodução da espécie existem apenas alguns indivíduos na população. Se estes indivíduos forem explorados deverá haver um impacto na reprodução da espécie. Para *B. guianensis*, diferenças entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco foi significativamente diferente de zero ($P < 0.05$), sugerindo cruzamento entre indivíduos parentes. A estimativa da correlação de paternidade foi significativamente diferente de zero ($P < 0.05$), indicando que parte das progênies (19,3%) são irmãos completos e que há um restrito número efetivo de doadores de pólen, com 5 a 7 árvores masculinas cruzando com cada árvore materna analisada. A partir da estimativa do tamanho efetivo de variância em progênies, foi determinado que para reter o tamanho efetivo de 150 na coleta de uma amostragem de sementes, é necessário coletar sementes de pelo menos 45 árvores maternas. O fluxo gênico via pólen em *B. guianensis*, estimado indiretamente através de uma avaliação na estrutura de progênies, indicou que árvores maternas recebem diferentes agrupamentos polínicos. A distância de fluxo de pólen foi estimada entre 308 a 961 m, dependendo do modelo de dispersão usado (normal ou exponencial). A área de vizinhança reprodutiva variou entre 81 a 812 hectares, dependendo da densidade populacional adotada.

4. Discussão e Conclusões

Os resultados preliminares para *J. copaia* não indicam nenhuma diferença na diversidade genética e dispersão de pólen antes e após o corte seletivo das árvores em curto período, para esta população e com esta intensidade de exploração. Para *D. odorata* diferenças significativas na dispersão de pólen e diversidade genética foram encontradas. Para *B. guianensis*, a detecção de um cruzamento não aleatório tem importante implicação para a conservação genética e programas de coleta de sementes. Para reter o tamanho efetivo populacional de 150, a coleta de sementes para uma conservação *ex situ* ou reflorestamento deve ser realizada no mínimo em 45 árvores maternas. E de acordo com a estrutura genética espacial detectada, se a retirada de sementes irá ser feita em uma população natural da espécie, as árvores maternas necessitam estar distantes entre si pelo menos 300m, para evitar a coleta de sementes de fêmeas relacionadas por parentesco. Na coleta de sementes em populações exploradas, isto não é aparentemente necessário, considerando que a exploração rompe com a prévia estrutura genética espacial. Por último, os resultados sugerem que a exploração florestal causa a perda de alelos raros, porém esses alelos provavelmente não são perdidos da população total, devido a sua presença nas árvores juvenis e nas progênies. A distância da dispersão do pólen é alta e o fluxo gênico oriundo de populações vizinhas ocorre de acordo com a detecção de alelos exclusivos das progênies. Isto pode compensar a perda dos alelos na população estudada. Além disso, a regeneração da espécie, acoplada com a longevidade da semente no banco de sementes do solo, também irão ajudar a reduzir o risco de perda de alelos. *Manilkara huberi* apresenta altos índices de diversidade genética molecular em comparação à média das espécies arbóreas tropicais. Entretanto apresenta alta taxa de endogamia, ou seja, desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg causado, tanto por autofecundação quanto por cruzamento entre parentes. Trata-se de uma espécie preferencialmente alógama, entretanto, com taxa significativa de autofecundação, que apresenta estruturação genética espacial, estando os indivíduos aparentados localizados num raio de cerca de 450 m. Esta intensa estruturação está relacionada ao fluxo

gênico de isolamento por distância, o que sugere a conservação de grandes áreas no sentido de evitar a perda de subpopulações devido à exploração seletiva que gere fragmentação. Esta atitude auxiliará na manutenção do potencial evolutivo da espécie. A alta diversidade genética de *M. huberi*, a alta taxa de cruzamento e o fato de ser de ampla abrangência na Amazônia, são fatores que sugerem que a espécie apresenta potencial para conservação *in situ* e *ex situ*. Para conservação *ex situ*, sementes devem ser coletadas de pelo menos 188 árvores maternas amostradas preferencialmente, buscando representar o máximo de populações. Este estudo demonstra que a diversidade genética das populações e os processos evolucionários de cada espécie responderão de maneiras diferentes ao corte seletivo das árvores, conseqüentemente, a avaliação de impactos diretos não pode facilmente ser generalizada.

Referências Bibliográficas

- Austerlitz, F. & Smouse, P.E. 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{ft} , pollen dispersal and interfemale distance. *Genetics* 157:851-857.
- Degen, B., Blanc, L., Caron, H., Maggie, L., Kremer, A. & Gourlet-Fleury, S. 2006. Impact of selective logging on genetic composition and demographic structure of four tropical tree species. *Biological Conservation* 131:386-401.
- Kalinowski, S.T.; Taper, M.L. & Marshall, T. C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16:1099-1006.
- Lacerda, E.B.L.; Sebbenn, A.M. & Kanashiro, M. 2008. Effects of selective logging on genetic diversity and spatial genetic structure of a *Hymenaea courbaril* population in the Brazilian Amazon *Forest Ecology and Management* 255:1034-1043.
- Lewis, P.O. & Zaykin, D. 1997. *GDA-Genetic data analysis: Version 1.0(d12) for windows*. Albuquerque: University of New Mexico. 39p.

- Lowe, A.J.; Boshier, D.; Ward, M.; Bacles, C.F.E. & Navarro, C. 2005. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. *Heredity* 95:255-273.
- Marshall, T.C.; Slate, J.; Kruuk, L.E.B. & Pemberton, J.M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7:639-655.
- Obbard. 2004. *Genetic Variation and Sexual System Evolution in the Annual Mercuries*. Thesis in Plant Science Department. 260p.
- Rajora, O.P.; Rahman, M.H.; Buchert, G.P. & Dancik, B. P. 2000. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobes*) in Ontario, Canada. *Molecular Ecology* 9:339-348.
- Ritland, K. 2002. *Multilocus mating system program MLTR. Version 3.0*. University of British Columbia, Canadá. Disponível em: <http://kritland@interchange.ubc.ca>. Acesso em 25/10/2008.
- Sebbenn, A.M.; Degen, B.; Azevedo, V.C.R.; Silva, M.; Lacerda, A.B.; Ciampi, A.Y.; Kanashiro, M.; Carneiro, F.S.; Tompson, I. & Loveless, M.D. 2007. Modelling the long-term impact of selective logging on genetic diversity and demographic structure of four tropical tree species in the Amazon forest. *Forest Ecology and Management* 254:335-349.
- Smouse, P.E.; Dyer, R.J.; Westfall, R.D. & Sork, V.L. 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. *Evolution* 55:260-271.

Financiamento: MCT/CNPq/PPG7, Embrapa Amazônia Oriental, DFID e University of Oxford.