



**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA
EM POPULAÇÕES NATURAIS DE
PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense* Camb.) NO
NORTE DE MINAS GERAIS**

ROGÉRIO CARVALHO FERNANDES

2008

ROGÉRIO CARVALHO FERNANDES

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM
POPULAÇÕES NATURAIS DE PEQUIZEIRO (*Caryocar
brasiliense* Camb.) NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Fernandes, Rogério Carvalho.

Diversidade e estrutura genética em populações naturais de pequiizeiro
(*Caryocar brasiliense* Camb.) no Norte de Minas Gerais / Rogério
Carvalho Fernandes. -- Lavras : UFLA, 2008.

65 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Bibliografia.

1. ISSR. 2. Estrutura genética espacial. 3. Fragmentação. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.973166

ROGÉRIO CARVALHO FERNANDES

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM
POPULAÇÕES NATURAIS DE PEQUIZEIRO (*Caryocar
brasiliense* Camb.) NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 08 de Maio de 2008.

Prof. Dr. Eduardo Leite Borba UFMG

Prof. Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes UFMG

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Ao Norte de Minas Gerais, terra de gente sofrida e aguerrida, pródiga em fé e esperança.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Aroldo e Diana e aos meus irmãos Aline e Rodrigo, família alicerçada no amor incondicional.

A minha noiva, Maria Fernanda, por seu amor, confiança, fidelidade, carinho, alegria e, principalmente, por ter dito sim em dezembro.

À professora Dulcinéia de Carvalho, pela orientação e respeito, por ter sido sempre presente e participativa, pela confiança e pelas oportunidades oferecidas.

Ao professor Paulo Sérgio Nascimento Lopes, pela orientação durante a graduação, pelos auxílios na realização desta dissertação e pelo apoio e incentivo ao meu ingresso no mestrado.

Ao seu Amário, dona Paixão, Júnior, Jordany e Ângela, por permitirem que eu fizesse parte de sua família.

Aos professores da UFMG e da UFLA.

Aos funcionários do Setor de Propagação de Plantas do Núcleo de Ciências Agrárias da UFMG: Seu Brechó, Seu Geraldo e, em especial, ao amigo Gil, cujo trabalho auxilia a propagação e a preservação do pequizeiro.

Aos amigos Evânia, Fábio, Flávio, Janú, Murilo, Sílvio e a todos os colegas que atuaram no laboratório, nesses dois últimos anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da UFLA.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 Cerrado	03
2.2 Fragmentação florestal	05
2.3 Descrição da espécie	06
2.4 Diversidade genética	11
2.5 Estrutura genética	13
2.6 Estrutura genética espacial	15
2.7 Marcadores ISSR	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Populações e amostragem	20
3.2 Extração e amplificação do DNA genômico	24
3.3 Separação e genotipagem dos fragmentos.....	26
3.4 Análises estatísticas	27
3.4.1 Diversidade e estrutura genética	27
3.4.2 Estrutura genética espacial dos genótipos	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Diversidade genética	30
4.2 Estrutura genética	32
4.3 Estrutura genética espacial dos genótipos	38
5 CONCLUSÕES	47

6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

		Página
TABELA 1	Município, código da população, coordenadas geográficas e altitude dos indivíduos amostrados no Norte de Minas Gerais	21
TABELA 2	Distâncias geográficas (km) entre sete populações naturais de <i>Caryocar brasiliense</i> . BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	22
TABELA 3	Nome e sequência dos 9 <i>primers</i> ISSR utilizados para a amplificação de <i>Caryocar brasiliense</i>	26
TABELA 4	Estimativas genéticas populacionais das sete populações naturais de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. amostradas. n_a : número de alelos observados; n_e : número efetivo de alelos H_e : diversidade genética de Nei; I : Índice de Shannon; e P : porcentagem de locos polimórficos	32
TABELA 5	Distribuição da diversidade genética em <i>Caryocar brasiliense</i> . H_T : heterozigosidade total; H_S : heterozigosidade dentro das populações; D_{ST} : diversidade entre populações e G_{ST} : proporção da diversidade genética entre as populações	33
TABELA 6	Resultado da análise de variância molecular em sete populações naturais de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. amostradas no Norte de Minas Gerais	34
TABELA 7	Valores de F_{ST} entre os pares de populações de <i>Caryocar brasiliense</i> . BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	35
TABELA 8	Estimativas de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) de Nei (1978) entre as populações de <i>Caryocar brasiliense</i> . BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	36

TABELA 9	Valores de S_p e de b_F nas populações de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. que apresentaram distribuição espacial não aleatória. FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	43
----------	--	----

LISTA DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1	Comparação entre a área de distribuição original do Cerrado e a área restante, em 2002 (Conservação Internacional do Brasil)	04
FIGURA 2	Localização das populações naturais de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. (BOC - Bocaiúva, BTZ - Buritizeiro, FCS – Francisco Sá, IBT - Ibiracatu, JAP - Japonvar, MOC – Montes Claros e TAB - Taiobeiras), amostradas no Norte de Minas Gerais	20
FIGURA 3	Padrão de um gel de ISSR utilizando o <i>primer</i> John, em indivíduos de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.	31
FIGURA 4	Dendrograma UPGMA das populações de <i>C. brasiliense</i> amostradas calculado de acordo com a identidade genética de Nei (Nei, 1978). Os números acima dos nós indicam a consistência dos mesmos, após 1000 permutações. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Spa, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.....	37
FIGURA 5	Posição e distribuição espacial de árvores de <i>C. brasiliense</i> Camb. em populações amostradas no Norte de Minas Gerais. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	40
FIGURA 6	Correlogramas do coeficiente de coancestria (kinship) por classes de distância para indivíduos de <i>Caryocar brasiliense</i> ; ---- intervalo de confiança a 95% de probabilidade. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS:	

Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras	42
--	----

RESUMO

FERNANDES, Rogério Carvalho. **Diversidade e estrutura genética em populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) no Norte de Minas Gerais**. 2008. 65 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, MG.*

O *Caryocar brasiliense* Camb., popularmente conhecido como pequiheiro, é uma espécie arbórea nativa do Cerrado que, devido aos seus múltiplos usos, tem grande importância socioeconômica para as populações carentes do Norte de Minas Gerais. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar a diversidade e a estrutura genética de 208 indivíduos de *C. brasiliense*, distribuídos em sete populações naturais no Norte de Minas Gerais, utilizando marcadores ISSR. Foram utilizados nove *primers*, que geraram 80 locos, dos quais 79 foram polimórficos. O número de alelos observados variou de 1,54 a 1,66. A heterozigosidade esperada e o Índice de Shannon variaram de 0,31 a 0,37 e de 0,46 a 0,54, respectivamente. Os resultados da AMOVA mostraram que a diversidade genética dentro das populações (86,97%) foi mais elevada do que a diversidade genética entre as populações (13,03%). O teste de Mantel revelou não haver correlação entre distância genética e distância geográfica ($r = -0,067$; $P = 0,416$), refutando a hipótese de isolamento por distância entre as populações. O fluxo alélico estimado para o conjunto das populações foi elevado ($Nm = 4,0$), suficiente para contrapor-se aos efeitos da deriva genética. Observou-se estrutura genética espacial significativa em cinco das sete populações amostradas, com valor médio de S_p (0,023) condizente com o encontrado em espécies arbóreas de fecundação cruzada. Apesar da elevada diversidade genética observada nas populações, a fragmentação do Cerrado e o extrativismo intensivo dos frutos do

Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Orientadora),
Eduardo Leite Borba – UFMG e Paulo Sérgio Nascimento Lopes - UFMG

pequizeiro põem em risco a sobrevivência da espécie, justificando a necessidade de implantação de programas para sua conservação.

ABSTRACT

FERNANDES, Rogério Carvalho. **Diversity and Genetic Structure in Natural Populations of Pequiizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) in the North of Minas Gerais.** 2008. 65 p. Dissertation (Master Program in Forest Engineering) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Caryocar brasiliense Camb., known as pequiizeiro, is a native tree species of the Cerrado biome and has a socioeconomic important in the North of Minas Gerais State due its multiple uses. Thus, the objective of the present study was to characterize the diversity and genetic structure of 208 individuals of *C. brasiliense*, located in seven natural populations in the North of Minas Gerais, using ISSR markers. The nine primers used generated 80 loci, of which 79 were polymorphic. The number of observed alleles ranged from 1.54 to 1.66. The expected heterozygosity and the Shannon Index ranged from 0.31 to 0.37 and from 0.46 to 0.54, respectively. AMOVA revealed that most of genetic variations were found within its populations (86.97%) rather than between them. The relatively low differentiation among populations can be attributed to high gene flow ($Nm = 4.0$) and may be sufficient to prevent genetic drift. The Mantel's test ($r = -0,067$; $P = 0,416$) revealed no correlation between the genetic and geographic distances, rejecting the hypothesis of isolation by the distance. A significative spatial genetic structure was observed in five of the seven populations analysed, with an average Sp (0.023) similar to that related for outcrossing tree species. In spite of the high genetic diversity values, the Cerrado biome fragmentation and the intensive extractivism of the pequiizeiro endangers the species, justifying the development of conservation programs for protection of this species.

Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Major Professor),
Eduardo Leite Borba – UFMG and Paulo Sérgio Nascimento Lopes - UFMG

1 INTRODUÇÃO

Apesar de toda sua diversidade e endemismo, o Cerrado vem sofrendo um processo de crescente fragmentação (Myers et al., 2000; Colevatti et al., 2001), causado pela eliminação da vegetação nativa, atividade freqüentemente justificada com o argumento da busca pelo progresso e o desenvolvimento da sociedade, pela abertura de novas áreas para a expansão da fronteira agrícola e da pecuária, além da obtenção de carvão vegetal.

O *Caryocar brasiliense* Camb. é uma espécie arbórea nativa do Cerrado que, por sua multiplicidade de usos, tem grande importância socioeconômica para as comunidades carentes que realizam o extrativismo dos seus frutos (Pozo, 1997). Porém, mesmo tendo seu corte proibido por lei (Portaria Nº 54, de 05/03/1987 – IBDF – Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal), o pequizeiro também é vítima do processo de fragmentação do Cerrado, pois a fiscalização, muitas vezes, é ineficiente e não impede que a espécie sofra reduções no número de indivíduos que compõem suas populações. Entretanto, mesmo o respeito à referida lei não é garantia de que o pequizeiro fique incólume às conseqüências do desmatamento perpetrado ao Cerrado. Um exemplo disso é que, no Norte de Minas Gerais, é comum encontrar grandes áreas desmatadas, nas quais se encontra o pequizeiro como única espécie arbórea restante.

Assim, situado em habitats fragmentados, o pequizeiro pode sofrer redução de sua diversidade genética, por processos como deriva, alterações da dinâmica reprodutiva e limitação do fluxo alélico, além de um provável aumento da endogamia, tornando ainda mais difícil sua sobrevivência. Além disso, devido à grande demanda pelos frutos, ocorre intenso extrativismo que, provavelmente, prejudica a regeneração natural da espécie, podendo gerar perdas de material genético.

A estrutura genética de *Caryocar brasiliense* Camb. foi estudada por Colevatti et al. (2001), utilizando-se marcadores microssatélites, por toda a distribuição geográfica da espécie. Entretanto, há a necessidade de um estudo em menor escala, visando à geração de informações mais localizadas, que subsidiem tanto a conservação *in situ* quanto a conservação *ex situ* da espécie no Norte de Minas Gerais. Embora Melo Júnior et al. (2004) tenham trabalhado em escala local, os dados foram obtidos com marcadores aloenzimáticos, portadores de baixo polimorfismo. Assim, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de uma amostragem em menor escala e com um marcador molecular de elevado polimorfismo, caso do ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Outro fator relevante é o fato deste ser o primeiro estudo com marcador ISSR em uma espécie arbórea no estado de Minas Gerais.

Este estudo foi realizado com os seguintes objetivos:

- I) quantificar a diversidade genética dentro e entre amostras de sete populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb.;
- II) analisar a estrutura genética espacial destas populações;
- III) verificar se há correlação entre distância genética e distância geográfica nas populações amostradas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cerrado

Cobrindo, aproximadamente, 22% do território nacional, o Cerrado encerra cerca de 160.000 espécies, incluindo plantas, animais e fungos (Ratter et al., 1997). No cerrado *sensu stricto* há mais de 800 espécies arbóreas e arbustivas, das quais aproximadamente 40% são endêmicas. As frutas do Cerrado ocupam um lugar de destaque, pois apresentam sabores marcantes e peculiares, com elevados teores de vitaminas, proteínas, sais minerais e açúcares, entre outros (Almeida et al., 1987; Barbosa, 1996; Silva et al., 2001).

Dependendo das características de solo, altitude, declividade e ocorrência de fogo, ocorrem, no Cerrado, 11 tipos de formações fisionômicas: 4 formações florestais (mata ciliar, mata de galeria, mata seca e cerradão) e 7 formações savânicas: cerrado *sensu stricto*, parque de cerrado, palmeiral, vereda, campo sujo, campo rupestre e campo limpo (Eiten, 1993). O clima do Cerrado é marcado por duas estações bem definidas: invernos secos e verões chuvosos. O período seco oscila entre cinco e seis meses e as chuvas são praticamente concentradas de outubro a março. Também ocorre elevada diversidade térmica, devido às diferentes latitudes e altitudes, enquanto o mecanismo atmosférico geral confere ao bioma uma tendência de uniformidade pluviométrica (Nimer, 1989).

Apesar de toda essa diversidade, a devastação do Cerrado – fruto da conversão de áreas naturais em agroecossistemas, da ampliação da área de influência urbana, da erosão e do assoreamento de cursos d'água, além da construção de hidrelétricas e mineração (Marinho-Filho, 1998) – atinge números impressionantes: dos seus 1.783.200 km² originais, restam apenas 20% (Figura 1) (Myers et al., 2000). Este, porém, não é o exemplo mais extremo da devastação das florestas brasileiras. Este papel cabe à Mata Atlântica, bioma no

qual a devastação atinge números ainda mais estonteantes: dos 1.227.600 km² de vegetação original só restaram 91.930 km² (7,5%) (Myers et al., 2000).

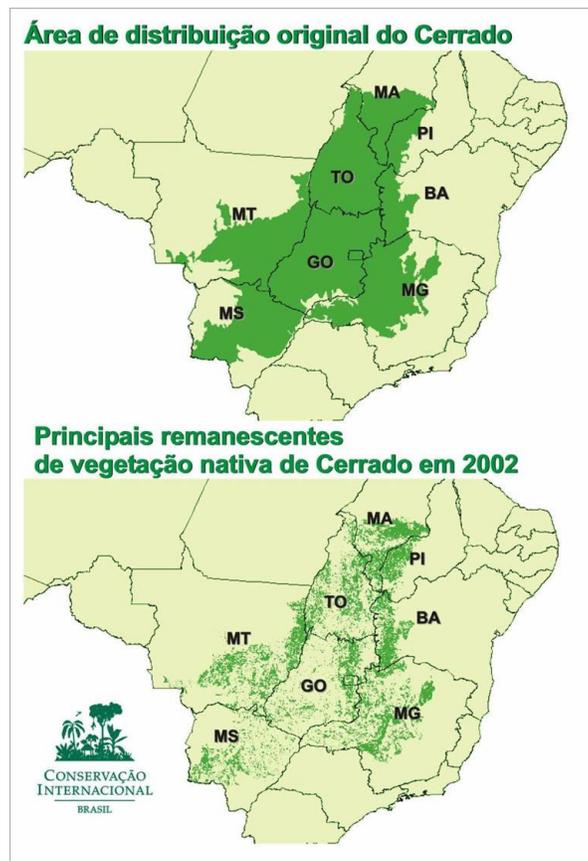


FIGURA 1 Comparação entre a área de distribuição original do Cerrado e a área restante, em 2002 (Conservação Internacional do Brasil).

2.2 Fragmentação florestal

A expansão da população humana e suas atividades têm resultado na destruição, na degradação e na fragmentação dos habitats, a tal ponto que este processo é, agora, a maior causa do declínio da biodiversidade (Ehrlich, 1988). A fragmentação afeta, de forma complexa, a biota nativa, o ciclo hidrológico local e regional e as condições econômica e social da população local (Bierregaard et al., 1992; Bierregaard & Dale, 1996). Suas causas mais evidentes são a expansão da fronteira agrícola, a falta de incentivo a pequenos produtores e problemas relacionados ao contexto político, social e administrativo (Laurance et al., 1997).

O processo de fragmentação florestal interfere ainda no padrão de biodiversidade, embora isto não seja fácil de compreender, mesmo porque a própria diversidade de espécies em florestas não é um tema com conceitos bem definidos. Em ecologia de florestas tropicais, um dos temas mais controvertidos diz respeito aos mecanismos que originam e mantêm a diversidade normalmente alta de espécies arbóreas (Whitmore, 1990). De acordo com Young & Boyle (2000), as implicações diretas da fragmentação sobre a biodiversidade geram não só a redução indiscriminada de áreas ecologicamente distintas como também a diminuição da diversidade genética inter e intrapopulacional, aumentando, assim, o cruzamento entre indivíduos aparentados, o que compromete a evolução natural das espécies e reduz a adaptação das mesmas às mudanças ambientais.

A avaliação das conseqüências da redução e do isolamento de populações é fundamental para predizer o destino de espécies em fragmentos florestais e para o planejamento efetivo de programas de manejo em pequenas áreas de floresta. Essa avaliação é uma tarefa complexa porque o efeito da fragmentação pode se estender indiretamente através de uma rede de interações interespecíficas e a mais crítica dessas interações talvez seja aquela que afeta diretamente o sucesso reprodutivo (Vieira, 2005). O processo de polinização,

por exemplo, pode ser interrompido pela fragmentação florestal, por meio de efeitos diretos e indiretos nas plantas e polinizadores (Aizen & Feinsinger, 1994), causando redução e isolamento das populações de plantas e perda de variabilidade (Murcia, 1996).

Dadas a universalidade e a constante expansão dos desflorestamentos, tornam-se fundamentais a avaliação e a divulgação das condições das espécies arbóreas situadas em ambientes fragmentados.

2.3 Descrição da espécie

Ao *Caryocar brasiliense* Camb. são atribuídos vários nomes populares, como piqui, piquiá-bravo, amêndoa-de-espinho, grão-de-cavalo, pequiá, pequiá-pedra, pequerim, suari, piquiá e pequi (Lorenzi, 2002), sendo este último o mais habitualmente utilizado. A palavra pequi origina-se do tupi *pyqui*, em que *py* = casca e *qui* = espinhos, em referência aos espinhos do endocarpo do fruto (Almeida & Silva, 1994; Lima, 1980; Ribeiro, 2000).

O *C. brasiliense* pertence à família *Caryocaraceae* (exclusivamente neotropical), constituída por 23 espécies em dois gêneros: *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G.F.W. Meyer, das quais 16 pertencem ao gênero *Caryocar*. A família estende-se da Costa Rica ao sul do Brasil e ao Paraguai e a maioria das espécies é importante por sua madeira, frutos ou sementes (Prance & Silva, 1973). O gênero *Caryocar* possui dezenove espécies, das quais oito ocorrem no Brasil (Barradas, 1972). Segundo Rizzini (1971), nos cerrados, encontra-se, além do *Caryocar brasiliense* Camb., o *Caryocar coriaceum* Wittm. A espécie *C. brasiliense* divide-se, ainda, em duas subespécies: o *Caryocar brasiliense brasiliense* e o *Caryocar brasiliense intermedium*. A primeira apresenta pedúnculos, pedicelos e folíolos densamente velutinos ou hirsutos e porte arbóreo; a segunda possui essas estruturas glabras e é de porte subarbustivo ou arbustivo (Prance & Silva, 1973).

Planta semidecídua, heliófita e seletiva xerófita (Lorenzi, 2002), o pequizeiro, geralmente, cresce como uma árvore frondosa, esgalhada e de altura variável, podendo atingir 15 m nos cerrados de Minas Gerais. O tronco é tortuoso, a casca é espessa, com fendas de cor escura, amarela ou pardo-claro-amarela, bastante pesada e resistente a agentes de deterioração (Braga, 1976; Cetec, 1983; Ferreira, 1980; Rizzini, 1971). Os ramos são grossos, as folhas são opostas e trifolioladas, com folíolos de margem crenada, rugosos e aveludados na face superior. As inflorescências apresentam-se em racemos terminais, com 10 a 30 flores e 5 sépalas avermelhadas e arredondadas, com corola alva. Os botões localizam-se no ápice das sépalas e são globosos com tons rosados; as flores são hermafroditas e actinomorfas. As pétalas são alvas ou amareladas e os estames muito numerosos (mais de 200), superando em tamanho as pétalas (Barradas, 1972; Ferri, 1969; Vitta, 1992). O ovário é súpero e globoso, com 4 a 6 carpelos e um único óvulo por loco (Barradas, 1972). O fruto é drupóide, contendo de um a quatro caroços (putâmens ou pirênios), podendo atingir até 6 unidades. O epicarpo é fino, verde ou arroxeadado, enquanto o mesocarpo é mais ou menos espesso, amarelado, muito rico em óleo e com forte odor característico. Os pirênios são envolvidos por um tecido carnoso (a polpa comestível), de coloração, geralmente, amarelo-alaranjada, variando de laranja, rósea, amarela e branca. O endocarpo tem textura pétrea e é recoberto por fibras esclerificadas, estreitamente compactas e por agulhas da mesma estrutura (Barradas, 1973; Gomes & Amâncio, 1995). Segundo Barradas (1973), no aspecto morfológico, a semente é constituída de embrião, tegumento e vestígios de endosperma.

Nativo em cerradão distrófico e mesotrófico, cerrado denso, cerrado *sensu stricto* e cerrado ralo (Almeida et al., 1998), a espécie se adapta, com facilidade, aos diversos tipos de solos e de condições de crescimento ocorrentes na região de Cerrado (Naves, 1999), ocorrendo tanto em formações primárias

como secundárias e pioneiras (Lorenzi, 2002), em áreas com boa luminosidade e de menor fertilidade natural do solo (Silva, 1993), clima subtropical ou tipicamente tropical, com estação seca bem definida, em solo profundo, sílico-argiloso e bem drenado (Andersen & Andersen, 1988). O pequizeiro possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrado no Distrito Federal e nos estados do Ceará, Goiás, Tocantins, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, São Paulo, Bahia, Pará, Piauí e também no Paraguai (Prance & Silva, 1973; Rizzo, 1981; Ribeiro et al., 1994; Silva et al., 1994). Araújo (1994) observou a ocorrência de 48 a 67 indivíduos de pequizeiro por hectare (ha), em áreas menos alteradas no norte de Minas Gerais, com uma média ponderada de 63 árvores por hectare.

Embora, até o momento, não existam trabalhos sobre as taxas de recrutamento da espécie, acredita-se que esta seja deficiente, pois são escassas as ocorrências de plantas jovens no campo. De fato, a taxa de germinação é baixa (20% a 30%), lenta e desuniforme - a emergência das plântulas ocorre dentro de um intervalo de 60 dias a um ano (Heringer, 1970; Miranda et al., 1987; Melo & Gonçalves, 1991; Araújo, 1994; Sá e Carvalho et al., 1994; Pereira et al., 2000; Pereira et al., 2001; Silva et al., 2001). Outros fatores agravantes são o intenso extrativismo perpetrado aos frutos pelos agricultores, diminuindo a quantidade de sementes aptas a germinar, e as prováveis conseqüências da devastação infligida ao Cerrado nas populações de polinizadores e dispersores da espécie.

Em relação à fenologia, o pequizeiro renova a folhagem e floresce no final da estação seca, entre agosto e novembro, com pico em setembro (Gribel, 1986). De acordo com Rizzini (1971), a deciduidade foliar representaria adaptação contra a perda de água e sobrevivência da espécie por um período desfavorável, havendo translocação de nutrientes das folhas. Os frutos iniciam a maturação em meados de novembro, prolongando-se até o início de fevereiro, alcançando a maturidade 3 a 4 meses após a floração. A floração e a frutificação

são mais precoces ao norte e mais tardias ao sul, podendo ocorrer uma eventual produção temporã, menos abundante, em julho e agosto (Gribel, 1986). Em um estudo no Norte de Minas Gerais, Araújo (1994) observou que o período de floração ocorreu antes do início da estação chuvosa, tendo o desenvolvimento e a maturação dos frutos terminado antes do período das chuvas. O autor também observou a ocorrência de eventual produção temporã.

O *C. brasiliense* possui flores de antese noturna e funcionais por uma noite (Gribel & Hay, 1993), hermafroditas e tipicamente quiropterófilas, com modelo morfológico do tipo “pincel de estames”. A polinização é realizada por pequenos morcegos nectarívoros (*Glossophaga soricina* e *Anoura geoffroyi*) e, embora seja auto-compatível, a espécie produz maior quantidade de frutos por fecundação cruzada (Gribel & Hay, 1993).

A dispersão dos propágulos a longa distância é realizada pela ema (*Rhea americana*), por endozoocoria. A gralha (*Cyanocorax cristatellus*) e a cotia (*Dasyprocta* sp) promovem a dispersão a curta distância, por sinzoocoria. Outros dispersores citados são o gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) (Gribel, 1986), o rato-do-campo, preá, paca (Melo, 1987), as saúvas – capazes de carregar caroços e sementes – e o gado bovino, que come os caroços e expele as sementes após a ruminação (Barradas, 1972). Entretanto, uma provável consequência da fragmentação, diminuindo as populações naturais de dispersores, pode comprometer a sobrevivência do pequizeiro.

Um grande atributo da espécie é a multiplicidade de usos aos quais se presta. As raízes são utilizadas para a preparação de cavernantes de pequenas embarcações, enquanto o caule, com madeira bastante resistente e elevado poder calorífico, é usado na fabricação de carvão siderúrgico e nas construções civil, rural e naval (Laboriau, 1966; Corrêa, 1984; Almeida & Silva, 1994). Uma elevada resistência ao esmagamento faz com que a madeira seja usada na fabricação de estacas, pilares, mourões, dormentes e pilões (Laboriau, 1966;

Brasil, 1985). A casca e as folhas contêm altos teores de taninos, constituindo matéria-prima para a fabricação de tinturas (Barradas, 1973). As folhas são ainda utilizadas no tratamento de gripes, bronquites e doenças do fígado, na regularização do fluxo menstrual (Siqueira, 1982) e, segundo Oliveira et al. (1968), o extrato etanólico apresentou atividade contra o sarcoma 180. A castanha, comestível, é utilizada na fabricação de paçoca e óleo branco (Pozo, 1997). O fruto, conhecido como “pequi”, é o principal produto do pequizeiro e, devido aos seus múltiplos usos, está incutido na cultura norte-mineira. Utilizado no preparo de pratos típicos, condimentos, óleos e licores (Almeida e Silva, 1994; Araújo, 1994), tem seu valor nutricional evidenciado por elevados teores de proteínas, açúcares, carotenóides, tiamina, sais de cálcio, ferro e cobre (Brandão, 2001). O óleo extraído da polpa também é utilizado como expectorante (Almeida & Silva, 1994) e contra edemas. O fato de a colheita e a comercialização dos frutos mobilizarem (durante os dois meses da safra de verão) 50% da população que vive no campo, representando 54,7% da renda anual do trabalhador rural (Pozo, 1997; Alencar, 2000), explicita a importância socioeconômica da espécie.

Segundo Lopes et al. (2006), ainda são escassos os estudos de conservação genética de espécies do Cerrado e, para o pequizeiro, tem sido desenvolvidos trabalhos, ainda na fase inicial, para a instalação de coleções em instituições, tais como Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) Campus Regional de Montes Claros, Embrapa Cerrados, Faculdades Federais Integradas de Diamantina (FAFEID, Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário (AGENCIARURAL) e Universidade Federal de Goiás (UFG). O mesmo autor ainda destaca o papel da espécie no combate à degeneração das áreas de Cerrado que ainda resistem aos impactos antrópicos, por meio de sua utilização em sistemas agroflorestais, no enriquecimento de áreas do Cerrado, na recuperação de áreas degradadas e na arborização de pastagens.

Enfim, considerando-se a importância do pequi, considerado o “Rei do Cerrado” por Ribeiro (2000), devem-se desenvolver, também, ações que visem uma exploração sustentável da espécie. Para a concretização de tal intuito, no entanto, são necessários estudos para reduzir os impactos do extrativismo, bem como a proposição de formas de plantio e manejo que privilegiem o aumento da oferta de frutos, com inclusão social e sem colocar em risco o ecossistema Cerrado (Lopes et al., 2006).

2.4. Diversidade genética

A existência de diversidade genética é uma condição fundamental para que ocorra evolução. A seleção natural atua entre as variantes dentro das populações em relação à adaptação ao ambiente, proporcionando variabilidade entre populações e, por fim, variabilidade entre espécies (Torggler et al., 1995). Segundo Comes & Kadereit (1998), a diversidade genética de uma espécie ou de uma população deve-se aos efeitos combinados de sua história genealógica e processos evolutivos. De fato, a preservação da diversidade genética é essencial para a sobrevivência das populações de espécies arbóreas às intempéries do meio e faz-se cada vez mais necessária, considerando-se a ocorrência de mudanças climáticas globais. A esse respeito, Hamrick (2004) considerou que, ao lado da grande longevidade e do potencial para elevadas taxas de fluxo de pólen, os altos níveis de diversidade genética dentro das populações podem fazer com que as espécies arbóreas persistam durante períodos de alterações ambientais.

A genética de populações tornou-se ferramenta importante por possibilitar a descrição da variabilidade genética em populações, bem como o estudo dos mecanismos de manutenção desta variabilidade (Nei, 1987). Incrementos nos níveis de diversidade genética ocorrem por meio de mutações. Entretanto, geralmente, estas ocorrem a taxas muito baixas e, por isso, sua

importância na genética de populações restringe-se a uma perspectiva de longo prazo, cerca de centenas a milhares de gerações (Allendorf & Luikart, 2007). Perdas de diversidade ocorrem com frequência muito maior e por um grande número de fatores, como, por exemplo, deriva genética, endogamia, seleção natural (no caso de genes neutros) (Nei, 1987), e reduções do tamanho populacional. A constituição genética das populações também pode ser influenciada, dentre outros, por sua distribuição geográfica (Ge et al., 2005), modo de reprodução, sistema de cruzamento, mecanismo de dispersão de sementes e o tipo de comunidade em que a espécie ocorre habitualmente (Hamrick, 1983).

A diversidade genética em populações naturais é caracterizada por meio de marcadores moleculares. Estes fornecem índices de diversidade, como a heterozigosidade esperada (H_e), o número médio de alelos observados (A), o número efetivo de alelos (A_e) e a porcentagem de locos polimórficos.

Estimativas de diversidade genética são também bastante úteis para a otimização de estratégias de amostragem (Hamrick & Godt, 1996).

Enfim, a mensuração dos níveis de diversidade genética é de grande relevância, por exemplo, na identificação de espécies prioritárias para a conservação, já que são escassos os recursos para este fim. Avaliações dos níveis de diversidade genética têm sido empregadas como ferramentas para subsidiar a adoção de estratégias de manejo e de conservação genética em inúmeros estudos (Peakall et al., 2003; Botrel & Carvalho, 2004; Zimback et al., 2004; Renau-Morata et al., 2005; Tan et al., 2005). Dado o panorama atual de desflorestamentos ininterruptos e mudanças climáticas globais, é crescente a importância de estudos com essa finalidade.

2.5 Estrutura genética

Denomina-se estrutura genética a distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações. Em uma definição mais ampla, a estrutura genética é a distribuição não casual de alelos ou genótipos no tempo e no espaço, sendo desprezados outros fatores que possam afetar as frequências alélicas e genotípicas, como a organização do genoma e os processos meióticos. O conhecimento do nível e da distribuição da variabilidade genética dentro de uma espécie pode propiciar uma melhor compreensão de sua história ecológica e evolutiva (Hamrick & Godt, 1996). Essa característica da estrutura genética também foi declarada por Weir (1990): o modo como a diversidade genética é partilhada dentro e entre as populações é de particular interesse para a conservação dos recursos genéticos e fundamental para o manejo racional dos recursos de populações naturais, pois fornece matéria-prima para mudanças evolutivas futuras e níveis diferentes de variação em diferentes populações podem fornecer evidência de eventos evolutivos no passado.

Espécies arbóreas de florestas tropicais apresentam, geralmente, alta proporção de locos polimórficos e maior nível de diversidade genética dentro de populações do que entre populações e o sistema de cruzamento é misto (Berg & Hamrick, 1997), com predominância de alogamia (Ward et al., 2005). Em um trabalho baseado em uma compilação de dados de pesquisas realizadas de 1993 a 2003, Nybom (2004) observou que, em estudos com marcadores dominantes (RAPD), espécies de vida longa e fecundação cruzada detinham a maior parte de sua diversidade genética dentro das populações.

Resultando da combinação entre mutação, migração, seleção e deriva genética, a estrutura genética é influenciada pelo modo de reprodução, o sistema de acasalamento, o tamanho da população, a distribuição geográfica e o fluxo alélico da espécie (Hamrick, 1983).

De maneira geral, quanto maior o tamanho populacional, maior a diversidade genética dentro da população e, conseqüentemente, menor a diferenciação entre populações. Já espécies com pequenas populações, de autofecundação e ou propagação vegetativa, com limitada dispersão de pólen e sementes, tendem a apresentar baixa diversidade dentro das populações e alta diferenciação entre elas (Loveless & Hamrick, 1984; Zanetti & Cavalli, 2003). Um dos fatores mais preocupantes de um pequeno tamanho populacional é sua alta susceptibilidade em relação à deriva genética, resultando em diminuições de diversidade. O mesmo não ocorre em grandes populações, nas quais o efeito da deriva sobre a diversidade é desprezível. Segundo Barret & Kohn (1991), se uma população que sofreu uma redução em seu tamanho populacional recuperar seu número de indivíduos rapidamente, o efeito da deriva será menor do que se a população for mantida constantemente pequena. Outra conseqüência de um pequeno tamanho populacional sobre a diversidade genética é um provável aumento da endogamia, decorrente da maior probabilidade de autofecundação e cruzamentos entre indivíduos aparentados (Kageyama et al., 1998; Keller & Waller, 2002).

A distribuição geográfica também é outro importante fator que influencia a estrutura genética. Espécies de ampla distribuição são mais propensas a influências das condições ambientais locais e podem possuir altos valores de diferenciação populacional, devido, pelo menos em parte, à deriva e à endogamia (Meloni et al., 2006).

O fluxo alélico - definido por Neigel (1977) como o movimento de genes em populações, incluindo todos os movimentos de gametas, propágulos e indivíduos que efetivamente trocam genes na distribuição espacial - reduz a diferenciação genética entre populações, homogeneizando as frequências alélicas, opondo-se aos efeitos da deriva genética (Hartl & Clark, 1977). Espécies que apresentam intenso movimento de pólen e sementes possuem

menor diferenciação entre populações, quando comparadas com espécies de fluxo alélico restrito (Hamrick, 1989).

O fluxo alélico entre as populações de espécies arbóreas pode ser explicado por quatro diferentes modelos:

- a) continente-ilha: o fluxo alélico ocorre de forma unidirecional de uma população grande continental para uma população menor isolada (Wright, 1940);
- b) modelo de ilha: a migração dá-se ao acaso entre grupos de pequenas populações (Wright, 1951).
- c) *stepping stone*: o fluxo alélico ocorre apenas entre populações vizinhas (Kimura & Weiss, 1964);
- d) isolamento por distância: considera uma população contínua, na qual o fluxo alélico ocorre entre vizinhos próximos (Wright, 1943).

Para a análise de dados dominantes, a estrutura genética é comumente estimada por meio do G_{ST} (Nei, 1973) ou pela análise de variância molecular ou AMOVA (Excoffier et al., 1992). Embora produzam resultados bastante similares quando aplicados a um mesmo conjunto de dados (Nybom & Bartish, 2000), esta última tem sido mais utilizada (Nybom, 2004).

2.6. Estrutura genética espacial

Entende-se por distribuição espacial dos genótipos, ou estrutura genética espacial, a forma como os genótipos (plantas) estão distribuídos - aleatoriamente ou de forma agregada, por exemplo - dentro de uma população. A distribuição espacial dos genótipos pode ser utilizada tanto para estimar o grau de isolamento de populações a partir das frequências alélicas ou genotípicas em cada população (van Rossum & Prentice, 2004; Gonzalez & Hamrick, 2005), como para auxiliar na detecção de agrupamentos de indivíduos aparentados (Doligez & Joly, 1997; Ng et al., 2004). A estruturação espacial dos genótipos pode,

ainda, servir como indicativo de processos como migração, fluxo alélico, deriva genética, seleção e, ainda, influenciar a dinâmica da endogamia biparental e depressão endogâmica (Setsuko et al., 2004).

O padrão da distribuição espacial é influenciado por diversos fatores, como heterogeneidade ambiental (Loveless & Hamrick, 1984; Kevin et al., 2004), padrão de deposição de sementes, dispersão de pólen, densidade de indivíduos adultos, seleção em micro-habitats, recrutamento (Howe & Smallwood, 1982; Hamrick & Loveless, 1986), competição inter e intraespecífica (Kevin et al., 2004) e deriva genética local, endogamia e seleção (Heywood, 1991; Epperson, 1995).

A caracterização da distribuição espacial pode ser realizada pela autocorrelação espacial, definida como a propriedade de variáveis assumirem valores, em pares de localidades separadas por certa distância, mais similares (autocorrelação positiva) ou menos similares (autocorrelação negativa) do que seria esperado pela associação aleatória dos pares observados (Legendre 1993). A autocorrelação espacial tem sido usualmente mensurada pelo coeficiente I de Moran (Doligez et al., 1998; Ueno et al., 2000), mas, recentemente, muitos autores têm empregado os coeficientes de coancestralidade em estudos com espécies arbóreas (Myiamoto et al., 2002; Ruggiero et al., 2005). Coeficientes de coancestralidade (ou parentesco) baseiam-se na probabilidade de identidade por descendência entre alelos (Ritland, 1996), permitindo a detecção de presença ou da ausência de estruturação e a avaliação do grau de parentesco entre os indivíduos.

O conhecimento e o entendimento da estrutura genética espacial populacional são cruciais para o manejo e a conservação dos recursos genéticos (Jin et al., 2003; Kevin et al., 2004), já que a presença de estruturação genética pode influenciar padrões reprodutivos e evolutivos. Tal conhecimento também é de fundamental importância para o estabelecimento de estratégias de

amostragem em populações naturais, seja para fins de conservação ou de melhoramento genético (Miyamoto et al., 2002), permitindo a obtenção de amostras representativas, podendo, ainda, minimizar o impacto das práticas de manejo na sustentabilidade dos recursos genéticos (Cloutier et al., 2007; Gandara, 1996; Kelly et al., 2004; Oddou-Muratorio et al., 2004).

2.7 Marcadores ISSR

A partir do surgimento dos marcadores moleculares – definidos, por Ferreira & Grattapaglia (1998), como todos e quaisquer fenótipos moleculares oriundos de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA, correspondente a regiões expressas ou não do genoma – e da constante evolução das técnicas neles baseados, principalmente em relação à capacidade de detecção de polimorfismo, acessibilidade e facilidade de execução, tem ocorrido importante avanço do conhecimento aplicado ao melhoramento genético e à genética de populações. Nesta última, a principal contribuição dos marcadores moleculares consiste na detecção dos níveis de diversidade genética das populações de interesse, informação essencial para a elaboração de programas de conservação genética.

A escolha da técnica molecular mais adequada para estudar a diversidade genética é dependente das hipóteses a serem testadas. Geralmente, a quantidade de variabilidade genética detectada por diferentes técnicas dentro de populações ou espécies é concordante (Allendorf & Luikart, 2007).

Marcadores microssatélites, ou seqüências simples repetidas (SSR – simple sequence repeats) são pequenas seqüências (“sequence motif”) com 1 a 4 nucleotídeos de comprimento, repetidas em *tandem* (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Devido à sua expressão co-dominante, multialelismo, abundância e ampla distribuição genômica, os microssatélites são, atualmente, um dos mais eficazes marcadores moleculares. Entretanto, a necessidade de seqüenciamento das

regiões flanqueadoras para as quais os *primers* são construídos exige grande quantidade de trabalho e tempo, além de ser bastante onerosa (Liu & Wendel, 2001).

Marcadores entre repetições de seqüências simples (*Inter Simple Sequence Repeat* ou ISSR) (Zietkiewicz et al., 1994) utilizam um *primer* composto por repetições di-, tri-, tetra- ou pentanucleotídicas, com ou sem uma seqüência de ancoragem de 1 a 3 nucleotídeos (a ausência da seqüência de ancoragem diminui a reprodutibilidade e a especificidade do *primer*) que tem os microssatélites como seqüência alvo. Assim como os microssatélites, os marcadores ISSR amplificam segmentos genômicos abundantes e amplamente distribuídos ao longo do genoma dos eucariontes sem, no entanto, necessitarem de seqüenciamento para a construção dos *primers* (Xue-Jun Ge et al., 2005). Embora apresentem herança dominante e não se equiparem aos microssatélites em relação ao multialelismo, os marcadores ISSR mostram-se superiores aos marcadores RAPD (Williams et al., 1990), em função de seus maiores níveis de reprodutibilidade e ou de polimorfismo (Zietkiewicz et al., 1994; Yang et al., 1996; Nagaoka & Ogihara, 1997; Parsons et al., 1997; Esselman et al., 1999) e melhor custo efetivo por polimorfismo (Wolfe & Randle, 2001). Sobre a maior reprodutibilidade do ISSR, em comparação com o RAPD, segundo Nybom (2004), isto se deve, supostamente, ao maior comprimento e temperatura de anelamento dos *primers* ISSR.

Durante a amplificação do DNA genômico via PCR, o *primer* único - só uma das fitas de DNA é amplificada - de ISSR produz múltiplos fragmentos de tamanhos variados (bandas), cujo padrão é analisado após separação por eletroforese para avaliar a diversidade genética. Devido à herança dominante, a presença da banda pode representar o homocigoto dominante ou o heterocigoto, enquanto a ausência pode ser devido ao estado homocigoto recessivo (Culley &

Wolfe, 2001), à ocorrência de inserções/deleções, ou à adição ou à perda de um sítio de reconhecimento do *primer* (Zietkiewicz et al., 1994; Yang et al., 1996).

Inicialmente, os marcadores ISSR tiveram seu uso restrito a espécies cultivadas, como, por exemplo, milho (Kantety et al., 1995), sorgo (Yang et al., 1996), arroz (Blair et al., 1999), batata (Prevost & Wilkinson, 1999) e citrus (Fang & Roose, 1997). Porém, já em 1998, Wolfe e colaboradores destacavam o potencial da técnica para estudos em populações naturais, tanto no aspecto populacional quanto no interespecífico (Robinson et al., 1997; Wolfe et al., 1998). Enfim, os ISSRs tornaram-se uma ferramenta importante também na avaliação da diversidade e da estrutura genética em populações naturais de espécies arbóreas (Deshpande et al., 2001; Fineschi et al., 2004; Jin & Li, 2007; Roh et al., 2007), propiciando conhecimentos essenciais ao planejamento de ações conservacionistas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Populações e amostragem

Para as análises genéticas foram avaliadas árvores oriundas de sete populações naturais de *Caryocar brasiliense*, em sete municípios no Norte de Minas Gerais: Bocaiúva, Buritizeiro, Francisco Sá, Ibiracatu, Japonvar, Montes Claros e Taiobeiras (Figura 2).

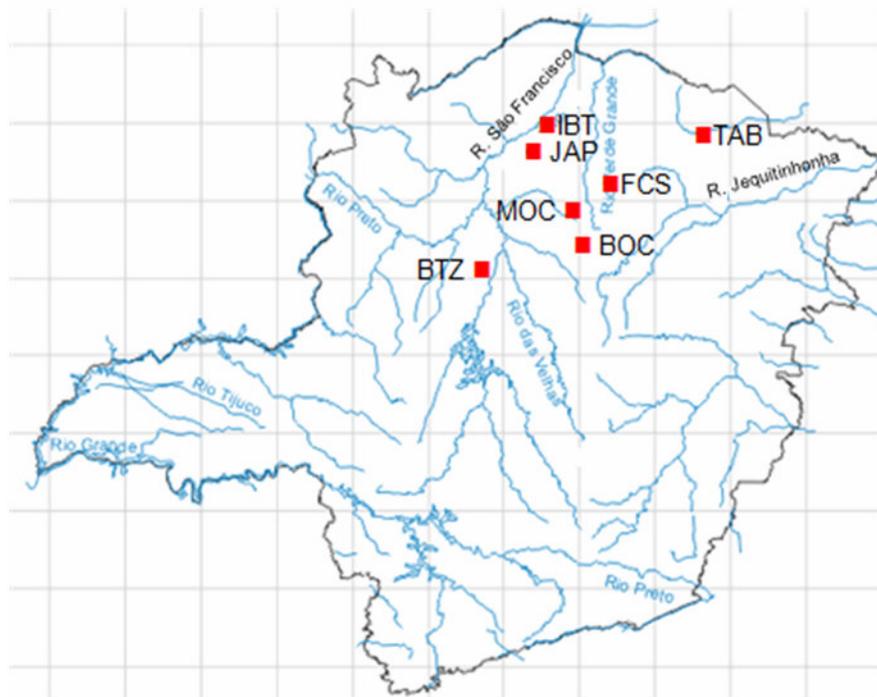


FIGURA 2 Localização das populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (BOC - Bocaiúva, BTZ - Buritizeiro, FCS – Francisco Sá, IBT - Ibiracatu, JAP - Japonvar, MOC – Montes Claros e TAB - Taiobeiras), amostradas no Norte de Minas Gerais.

As populações amostradas estão inseridas em importantes regiões de Minas Gerais, como a bacia do rio São Francisco (na margem direita os municípios de Bocaiúva, Francisco Sá, Ibiracatu, Japonvar, Montes Claros e, na margem esquerda, o município de Buritizeiro) e o vale do Jequitinhonha (município de Taiobeiras).

Os dados sobre o município, o código das populações, as coordenadas geográficas (tomadas da planta mais central em cada população) e a altitude das áreas amostradas encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 Município, código da população, coordenadas geográficas e altitude dos indivíduos amostrados no Norte de Minas Gerais.

Município	População	Coordenadas	Altitude (m)
Bocaiúva	BOC	17°08'11" S 43°53'27" O	700
Buritizeiro	BTZ	17°19'58" S 44°58'23" O	545
Francisco Sá	FCS	16°19' 47" S 43°18'50" O	950
Ibiracatu	IBT	15°41' 18" S 44°10'16" O	840
Japonvar	JAP	16°00'23" S 44°16'28" O	580
Montes Claros	MOC	16°54'52" S 43°55'48" O	1010
Taiobeiras	TAB	15°48'39" S 42°10'28" O	821

Em todas as populações, as árvores amostradas foram georreferenciadas com aparelho GPS Garmin 12 e identificadas com placas de alumínio. O georreferenciamento teve precisão média de 4,5 m. A distância entre as populações amostradas variou de 24,9 km (entre Bocaiúva e Montes Claros) a 342,9 km (entre Buritizeiro e Taiobeiras) (Tabela 2).

TABELA 2 Distâncias geográficas (km) entre sete populações naturais de *Caryocar brasiliense*. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

	BOC	BTZ	FCS	IBT	JAP	MOC	TAB
BOC	-	117,1	108,4	163,0	131,6	24,9	234,8
BTZ	-	-	208,8	201,1	164,6	120,3	342,9
FCS	-	-	-	116,0	108,8	92,2	134,8
IBT	-	-	-	-	36,9	138,1	214,4
JAP	-	-	-	-	-	107,0	226,0
MOC	-	-	-	-	-	-	223,8
TAB	-	-	-	-	-	-	-

As populações de Ibiracatu e de Montes Claros localizam-se em área de cerrado *sensu stricto* que sofreu perturbações no passado por meio do desmatamento para a implantação de pastagens. Hoje, entretanto, ambas as localidades estão cercadas, em processo de regeneração e, além dos pequizeiros, também são conservadas diversas espécies arbóreas do Cerrado. Em Ibiracatu, a área foi isolada para conservação já há 6 anos, mas, durante a amostragem, foi observado grande número de árvores atacadas pela broca-do-caule (causada por uma lagarta que abre galerias no interior do caule) e pelo mal-do-cipó (causado por *Phomopsis* sp., que ataca folhas e caules). Tal constatação alerta para um provável comprometimento à sobrevivência dos pequizeiros nesta área. Em

Montes Claros, a área amostrada é contígua à comunidade rural de Abóboras, onde os agricultores realizam extrativismo dos frutos do pequizeiro.

As populações de Buritizeiro e Taiobeiras encontram-se em áreas de pastagens, próximas a fazendas nas quais a soltura do gado nas áreas de Cerrado é prática comum, o que pode prejudicar o recrutamento, pois o pastejo provoca a compactação do solo (dificultando a germinação das sementes) e elimina plântulas. Todavia, os mesmos podem atuar como dispersores de curta distância (Barradas, 1972). Em ambas as populações é escassa a ocorrência de outras espécies arbóreas do Cerrado. Na população de Taiobeiras ocorrem roçadas e, assim como na população de Ibiracatu, também foi observado grande número de plantas atacadas pela broca-do-caule.

As populações de Bocaiúva e Japonvar localizam-se, em parte, num cerrado *sensu stricto* e outra parte em regiões de pastagem que são formadas por indivíduos remanescentes da vegetação nativa. Em ambas as populações há ocorrência de agricultura familiar, o que resulta em uma intensa coleta de frutos de espécies nativas, principalmente do pequizeiro.

A população de Francisco Sá está presente em uma região de Cerrado menos antropizada (em virtude da topografia acidentada, com menor aptidão para a agropecuária), na região da Serra do Espinhaço. Em torno desta área há grandes cultivos de *Eucalyptus* e *Pinus*.

Nas populações de Ibiracatu, Montes Claros, Buritizeiro e Taiobeiras, a amostragem foi realizada em dezembro de 2006, de forma aleatória, respeitando-se uma distância mínima de 50 m entre cada planta, de forma a evitar a sobreposição de gerações. Em cada árvore realizou-se, por meio de trena, medição da circunferência à altura do peito (CAP) e aos 30 cm do solo, sendo esta última medida utilizada na classificação da árvore como adulta (circunferência do caule aos 30 cm do solo maior do que 20 cm). Coletaram-se folhas de 30 plantas adultas por população (exceto a população de Ibiracatu,

com 28 plantas), totalizando 208 plantas. Após coletadas, as folhas foram identificadas e colocadas em saco plástico, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e transportadas até o Laboratório de Propagação de Plantas do Núcleo de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, campus Montes Claros e armazenadas em freezer. Posteriormente, o material coletado foi transportado para o Laboratório de Conservação de Recursos Genéticos Florestais, no Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (DCF/UFLA) e armazenado em *deep freezer* a -80°C . A extração do DNA foi realizada em fevereiro de 2007.

As populações de Japonvar, Francisco Sá e Bocaiúva foram coletadas em outubro de 2001, para a realização do trabalho de Melo Júnior et al. (2004). A amostragem também foi aleatória, porém, com uma distância mínima de 100 m entre cada planta adulta. As plantas também foram identificadas e georreferenciadas, porém, não foram realizadas medidas de diâmetro de caule. A extração do DNA dessas populações foi realizada logo após a coleta.

3.2 Extração e amplificação do DNA genômico

Para a extração do DNA pelo método CTAB (*cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide*) (Doyle & Doyle, 1987), foram pesados, aproximadamente, 100 mg de folhas de cada planta. Estas foram maceradas em um almofariz contendo 900 microlitros de tampão de extração (2% de CTAB; 100 mM de Tris pH 8,0; 20 mM de EDTA pH 8,0; 1,4 M de NaCl e 1% de polivinilpirrolidona), 0,2% de β -Mercaptoetanol, areia lavada e polivinilpirrolidona. Os materiais macerados foram, então, colocados em microtubos de 1,5 mL, devidamente identificados e levados ao banho-maria por 50 minutos, a 65°C . A extração dos ácidos nucléicos foi realizada com clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), separando-se a fase orgânica da fase aquosa por centrifugação a 12.000 rpm, por 10 minutos, ao fim dos quais o

sobrenadante (fase aquosa) foi coletado e transferido para novos microtubos. A estes foram adicionados 450 μL de isopropanol gelado. Em seguida, os microtubos foram armazenados em freezer, por 24 horas, para a precipitação do DNA. Após a precipitação, realizou-se nova centrifugação – 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C – seguida pelo descarte do sobrenadante e por “lavagem” com 100 μL de etanol 70%. Finalmente, os microtubos, agora contendo o pellet de DNA, foram secados em temperatura ambiente. Após a secagem, adicionaram-se 100 μL de TE para a solubilização do DNA.

As quantificações do DNA solubilizado foram realizadas em um fluorímetro Hoefer-TKO 100. Para tanto, utilizaram-se 2 μL de DNA e 2 mL de tampão TNE 10x (1,3% Tris base; 0,37% $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 11,68% NaCl - pH 7,4), para cada amostra. Visto que foram obtidas quantidades muito pequenas de DNA (entre 0 e 65 ng/mL, com média entre todas as populações de 14,5 ng/mL), efetuou-se uma diluição padrão na proporção de 5 μL de DNA para 100 μL de tampão TE (10% Tris 1 M pH 8,0; 2% EDTA 0,2 M).

Com o intuito de verificar a adequabilidade dos *primers* disponíveis, foram realizadas amplificações utilizando-se 20 *primers* e DNA de 4 plantas provenientes de 4 populações (1 planta por população), totalizando 80 reações. Dos vinte *primers* iniciais, nove amplificaram um maior número de fragmentos de boa resolução e foram selecionados (Tabela 3).

Assim, as reações de amplificação foram conduzidas em um termociclador GeneAmp PCR System 9700, num volume total de 12 μL , contendo 2 μL de DNA genômico diluído 20 X; 1,20 μL de Tampão PCR 10 X (500 mM de Tris-HCl pH 8,0; 200 mM de KCl; 2,5 mg/mL de BSA; 200 mM de Tartrazine e 1% de Ficol), 1,04 μL de de dNTP + MgCl_2 (dNTP a 2,5 mM; MgCl_2 a 25 mM), 0,96 μL de diluente da Taq DNA polimerase 0,30 μL de Taq DNA polimerase (5U/ μL) e 2 μL de cada *primer* (2 mM). Após uma desnaturação inicial a 94°C, por 2 minutos, as reações foram submetidas a 37

ciclos de amplificação. Cada ciclo constituiu-se de 1 minuto a 94°C, 2 minutos a 47°C e 2 minutos a 72°C. Ao final do último ciclo, seguiu-se um período de extensão final, por 7 minutos, a 72°C.

TABELA 3 Nome e seqüência dos 9 *primers* ISSR utilizados para a amplificação de *Caryocar brasiliense*.

<i>Primer</i>	Seqüência (5' - 3')
Chris (CA)7-YG	CAC ACA CAC ACA CAY G
John (AG)7-YC	AGA GAG AGA GAG AGY C
M 1 CAA-(GA)5	CAA GAG AGA GAG A
Mao	CTC CTC CTC CTC RC
Omar	GAG GAG GAG GAG RC
R 7	CTC TCT CTC TCT CTC TRG
UBC 841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC
UBC 844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC
UBC 898	CAC ACA CAC ACA RY

*R= purina (A, G)

*Y= pirimidina (C, T)

3.3 Separação e genotipagem dos fragmentos

Os produtos da amplificação corados com tartrazina (já incluída no tampão PCR 10 X) foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo (5 mg/mL). As corridas eletroforéticas, efetuadas em cuba horizontal (Bio-Rad Sub-Cell, modelo 192) sob tampão TBE (Tris-Ácido Bórico-EDTA) 0,5 X, tiveram duração de 2 horas e 25 minutos, sob voltagem de 120 V. Os géis foram reaproveitados até 4 vezes.

Após a eletroforese, os géis foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (254 nm) e fotodocumentados por meio do software de

análise de imagens UVP Doc Itls. O tamanho dos fragmentos foi estimado em comparação com um marcador de peso molecular (“DNA ladder”) de 1 kb (Amresco). Finalmente, os géis foram interpretados quanto à presença (1) e à ausência (0) de fragmentos. Com base nesses resultados, foi construída uma matriz de dados binários para avaliar o nível de polimorfismo referente às populações. Cada fragmento foi considerado como um loco.

3.4 Análises estatísticas

3.4.1 Diversidade e estrutura genética

As análises de diversidade genética intrapopulacional foram efetuadas com o programa POPGENE, versão 1.32 (Yeh et al., 1997), utilizando parâmetros para dados diplóides dominantes, ou seja, assumindo que as populações encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foram estimados o número de alelos observados (n_a), o número efetivo de alelos (n_e) (Kimura & Crow, 1964), a heterozigosidade esperada (H_e) (Nei, 1973), a porcentagem de locos polimórficos, o índice de Shannon (I) (Lewontin, 1972), a heterozigosidade total (H_T), a heterozigosidade média dentro da população (H_S), a diversidade entre populações ($D_{ST} = H_T - H_S$) e o coeficiente de diferenciação populacional ($G_{ST} = D_{ST}/H_T$). O fluxo alélico foi calculado indiretamente por meio da fórmula $Nm = 0,5 (1 - G_{ST})/G_{ST}$ (McDermott & McDonald, 1993).

Para a divisão da variância entre seus componentes dentro e entre as populações foi conduzida uma análise de variância molecular (AMOVA), por meio do programa Arlequin, versão 3.1 (Excoffier et al., 2005), assumindo-se que todos os indivíduos dentro das populações possuíam o mesmo padrão de acasalamento. A AMOVA calcula uma matriz de distância fenotípica para todos os pares de comparações, utilizando um coeficiente de similaridade genética (o quadrado das distâncias euclidianas, a distância genética de Nei & Li ou a similaridade genética de Jaccard, por exemplo). De acordo com Huff et al.

(1993), Aide & Rivera (1998) e Jenczewski et al. (1999), citados por Nybom (2004), esses coeficientes, quando aplicados na AMOVA, produzem resultados praticamente idênticos. No presente trabalho, o cálculo da AMOVA foi efetuado utilizando-se o quadrado das distâncias euclidianas. Para testar a significância dos componentes da variância e das estatísticas F, foram realizadas 10.000 permutações dos dados.

As similaridades genéticas entre as populações (Nei, 1978), estimadas no programa TFPGA, versão 1.3 (*Tools for Population Genetic Analysis*) (Miller, 1997), foram utilizadas para a construção de um dendrograma, por meio do método UPGMA (*Unweighted pair group method arithmetic average*), na rotina SAHN (*Sequential Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering*), no programa NTSYS, versão 2.11 (Rohlf, 2000). A consistência dos agrupamentos do dendrograma foi verificada por meio do programa TFPGA, após 1.000 permutações.

3.4.2 Estrutura genética espacial dos genótipos

Para a análise da estrutura espacial dos genótipos dentro de cada população, estimou-se a coancestria, por meio do coeficiente kinship para marcadores dominantes, entre pares de indivíduos para as classes de distâncias, proposto por Hardy (2003).

Este coeficiente é calculado da seguinte forma:

$$F_{ij} = \left(\frac{Q_{ij} - Q_m}{1 - Q_m} \right)$$

em que:

F_{ij} = coeficiente kinship de coancestria genética entre os indivíduos i e j ;

Q_{ij} = probabilidade de que amostras aleatórias dos indivíduos i e j sejam idênticas por ascendência;

Qm = probabilidade média de que amostras aleatórias tomadas na população sejam idênticas por ascendência.

Para a estimativa do coeficiente kinship foi utilizado o programa Spagedi, versão 1.2 (Hardy & Vekemans, 2002), considerando-se o coeficiente de endogamia igual a zero. O erro padrão da média das estimativas foi obtido por reamostragem *jackknife* entre locos e, a partir dele, foram construídos intervalos de confiança a 95% de probabilidade do coeficiente de coancestria médio estimado para cada classe de distância. Para a obtenção de classes de distância mais apuradas, estas foram definidas de forma que a proporção de todos os indivíduos representados pelo menos uma vez em cada intervalo de distância fosse superior a 50% e que o coeficiente de variação do número de vezes que cada indivíduo é representado em cada intervalo fosse menor ou igual a 1 (Hardy & Vekemans, 2002). A ocorrência de estrutura genética espacial foi testada dentro de cada classe de distância utilizando-se 10.000 permutações. A magnitude da estrutura genética espacial foi mensurada por meio da estatística S_p (Vekemans & Hardy, 2004), pelo seguinte cálculo: $S_p = -b_F/(1 - F_1)$, em que F_1 é a média do coeficiente de coancestria (F_{ij}) dos indivíduos dentro da população na primeira classe de distância e b_F é a inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria. Os valores de S_p foram utilizados para comparar a extensão da estrutura genética espacial entre as populações. Para testar uma possível correlação entre distância genética (Nei, 1978) e distância geográfica (em metros) das populações foi realizado o Teste de Mantel, utilizando o programa PCord (McCune & Mefford, 1997), realizando 1.000 permutações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Diversidade genética

Os nove *primers* utilizados amplificaram 80 locos (5 a 14 locos por *primer*), dos quais 79 foram polimórficos. Na Figura 3 é mostrado o padrão de fragmentos gerados por marcador ISSR com o *primer* John, em amostras de DNA de *C. brasiliense*. Como, em todas as populações amostradas, o tamanho amostral foi inferior a 50, foram considerados polimórficos os locos nos quais a frequência do alelo mais comum foi menor ou igual a 95% (Nei, 1987).

Na Tabela 4 são apresentados os valores de diversidade genética intrapopulacional estimados nas populações de *C. brasiliense*. A porcentagem de locos polimórficos (P) foi alta, variando de 85,0%, nas populações de pequiizeiro amostradas em Bocaiúva (BOC) a 96,25%, em Francisco Sá (FCS), com média de 92,14%. Melo Júnior et al. (2004) e Oliveira (1998), utilizando marcadores aloenzimáticos, também encontraram elevada porcentagem de locos polimórficos (100%) na espécie. Segundo Smith & Pham (1996), estimativas de diversidade genética utilizando marcadores dominantes são algumas vezes menores do que as estimativas por marcadores codominantes, como aloenzimas.

Entretanto, o padrão geral é de encontrar maiores níveis de diversidade genética por meio de marcadores dominantes, em comparação com marcadores codominantes (Ge & Sun, 2001). Nas populações IBT, BTZ, TAB, JAP e FCS, os valores de P (variando de 93,75% a 96,25%) foram bastante similares e mais elevados do que nas populações MOC e BOC (87,50% e 85,00%, respectivamente). O número de alelos observados (n_a) variou de 1,85 a 1,96 e o número efetivo de alelos (n_e) variou de 1,54 a 1,66 (Tabela 4). Nenhum desses valores, entretanto, foi diferente entre as populações, de acordo com o desvio padrão.

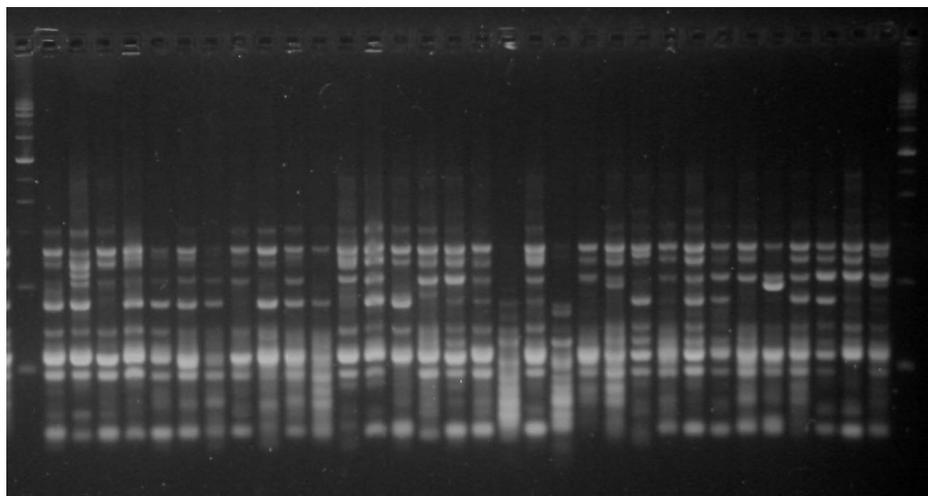


FIGURA 3 Padrão de um gel de ISSR utilizando o *primer* John, em indivíduos de *Caryocar brasiliense* Camb.

A heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,31 a 0,37 e, de acordo com o desvio padrão, não foi diferente entre as populações. Os valores estimados para o Índice de Shannon (I) variaram de 0,46 (BOC) a 0,54 (BTZ, TAB e FCS) e também não foram diferentes nas populações amostradas, de acordo com o desvio padrão. Assim como os valores estimados de P , as estimativas de H_e e I evidenciaram altos níveis de diversidade genética dentro das populações. Melo Júnior et al. (2004), utilizando marcadores aloenzimáticos e Colevatti et al. (2001), utilizando marcadores microssatélites, também encontraram valores elevados de heterozigosidade esperada e observada em populações naturais de pequi. Outros estudos relatam elevados índices de diversidade genética em espécies arbóreas do Cerrado, como araticunzeiro (Telles et al., 2003), palmitero (Reis, 1996), copaíba (Pinto et al., 2004) e jenipapo (Sebbenn et al., 1998).

TABELA 4 Estimativas genéticas populacionais das sete populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. amostradas. n_a : número de alelos observados; n_e : número efetivo de alelos H_e : diversidade genética de Nei; I : Índice de Shannon; e P : porcentagem de locos polimórficos.

Populações	n_a	n_e	H_e	I	P
BOC	1,85 (0,359)	1,54 (0,365)	0,31 (0,181)	0,46 (0,246)	85,00
BTZ	1,95 (0,220)	1,66 (0,319)	0,37 (0,150)	0,54 (0,196)	95,00
FCS	1,96 (0,191)	1,65 (0,298)	0,37 (0,136)	0,54 (0,174)	96,25
IBT	1,94 (0,244)	1,59 (0,322)	0,34 (0,151)	0,51 (0,198)	93,75
JAP	1,94 (0,244)	1,64 (0,328)	0,36 (0,156)	0,53 (0,204)	93,75
MOC	1,88 (0,333)	1,60 (0,349)	0,34 (0,170)	0,50 (0,223)	87,50
TAB	1,94 (0,244)	1,65 (0,314)	0,37 (0,147)	0,54 (0,192)	93,75
Média	1,92	1,62	0,35	0,52	92,14

(): desvio padrão

BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

4.2 Estrutura genética

A heterozigosidade genética total (H_T), a heterozigosidade média dentro da população e a diversidade entre populações (D_{ST}) são mostrados na Tabela 5. O valor de H_T (0,395) foi superior aos valores observados em plantas polinizadas por animais (0,167) e também ao das espécies arbóreas tropicais de ampla distribuição (0,204) (Loveless & Hamrick, 1984; Hamrick & Godt, 1989; Loveless, 1992).

TABELA 5 Distribuição da diversidade genética em *Caryocar brasiliense*. H_T : heterozigosidade total; H_S : heterozigosidade dentro das populações; D_{ST} : diversidade entre populações e G_{ST} : proporção da diversidade genética entre as populações.

	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
Média	0,395	0,351	0,044	0,111
Desvio padrão	0,014	0,012	-	-

A proporção da diversidade genética entre as populações (G_{ST}) foi de 0,111 (Tabela 5), indicando que a variabilidade entre e dentro das populações contribuiu com 11,1% e 88,9% da heterozigosidade total, respectivamente. O valor de G_{ST} está de acordo com os valores observados em espécies de fecundação cruzada (0,099 - 0,216) (Hamrick, 1989). Embora estes valores refiram-se a estudos com marcadores aloenzimáticos, segundo Nybom & Bartish (2000), o G_{ST} calculado com marcadores dominantes produz estimativas similares àquelas obtidas com marcadores codominantes.

Os resultados da AMOVA foram bastante semelhantes aos valores de G_{ST} , também mostrando que a maior parte da diversidade genética de *Caryocar brasiliense* encontra-se dentro das populações (86,97%, $P < 0,001$) (Tabela 6). Estimativas de diferenciação genética entre populações de espécies de fecundação cruzada, calculadas pela AMOVA e obtidas por marcadores RAPD (de herança dominante, assim como os marcadores ISSR), são comumente menores do que 28% (Nybom & Bartish, 2000). De fato, os resultados obtidos, atestando a predominância da diversidade genética dentro das populações (86,97%), estão em conformidade com os resultados encontrados para espécies de fecundação cruzada e vida longa por meio de marcadores dominantes (Nybom, 2004; Apte et al., 2006) e também para a maioria das espécies tropicais (Hamrick & Loveless, 1989).

O fluxo alélico (Nm), estimado com base nos valores de G_{ST} (McDermott & Mcdonald, 1993), foi de 4,005. Esse resultado é condizente com a baixa diferenciação genética entre as populações. Teoricamente, um fluxo alélico maior do que quatro migrantes por geração ($Nm > 4$) é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética (Slatkin, 1987).

TABELA 6 Resultado da análise de variância molecular em sete populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. amostradas no Norte de Minas Gerais.

Fonte de variação	GL	SQ	Componentes da variância	Varição total (%)	P
Entre populações	6	173,79	0,80	13,03	< 0,0001
Dentro de populações	20	1068,0	5,31	86,97	< 0,0001
Total	20	1241,8	6,11	100	
	7	7			

GL = graus de liberdade; SQ = soma do quadrado dos desvios.

Os valores de F_{ST} obtidos para cada par de populações pela AMOVA (Tabela 7) foram baixos e significativos ($P < 0,05$), evidenciando baixa diferenciação genética entre as populações amostradas.

TABELA 7 Valores de F_{ST} entre os pares de populações de *Caryocar brasiliense*. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

Populações	BOC	BTZ	FCS	IBT	JAP	MOC	TAB
BOC	----						
BTZ	0,111	----					
FCS	0,122	0,141	----				
IBT	0,115	0,074	0,171	----			
JAP	0,099	0,072	0,045	0,115	----		
MOC	0,193	0,052	0,213	0,142	0,171	----	
TAB	0,125	0,130	0,130	0,181	0,077	0,228	----

As maiores diferenciações genéticas foram encontradas entre as populações MOC e TAB (0,228) e entre as populações FCS e MOC (0,213). Entre as populações BTZ e MOC (0,052) e JAP e FCS (0,045) foram encontradas as menores diferenciações genéticas.

Na Tabela 8 são mostradas as estimativas de identidade e a distância genética de Nei (1978) entre as populações de *Caryocar brasiliense*.

TABELA 8 Estimativas de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) de Nei (1978) entre as populações de *Caryocar brasiliense*. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

Populações	BOC	BTZ	FCS	IBT	JAP	MOC	TAB
BOC	----	0,9376	0,9161	0,9399	0,9245	0,9014	0,9177
BTZ	0,0644	----	0,9290	0,9635	0,9508	0,9653	0,9199
FCS	0,0876	0,0737	----	0,9197	0,9785	0,8854	0,9463
IBT	0,0620	0,0372	0,0837	----	0,9294	0,9570	0,9191
JAP	0,0785	0,0504	0,0218	0,0732	----	0,8955	0,9617
MOC	0,1038	0,0353	0,1218	0,0439	0,1103	----	0,8879
TAB	0,0858	0,0835	0,0552	0,0844	0,0391	0,1189	----

A distância genética média entre as populações foi de 0,072. A menor distância genética foi encontrada entre as populações de JAP e FCS (0,0218), enquanto as populações MOC e FCS apresentaram o maior valor de distância genética (0,1218).

Assim como os valores de F_{ST} , as estimativas de distância genética de Nei mostraram baixa diferenciação genética entre as populações, o que sugere eficiência do fluxo alélico entre elas. Este deve ocorrer predominantemente via pólen, pois a dispersão de sementes da espécie é restrita e, provavelmente, agravada pela presença de barreiras geográficas como o rio São Francisco (separando a população de Buritizeiro das demais) e o rio Verde Grande (separando as populações de Taiobeiras e Francisco Sá das restantes).

A baixa diferenciação genética encontrada entre as populações permite também a suposição de que elas faziam parte de uma população contínua. Dessa forma, possíveis efeitos da fragmentação na diferenciação genética entre estas populações poderão ser avaliados por meio do estudo de progênies, já que a

fragmentação do Cerrado é um evento recente (aproximadamente 70 anos), considerando o ciclo de vida da espécie. No presente estudo, somente indivíduos adultos, presentes antes do início da fragmentação, foram amostrados.

A partir da matriz de identidade genética (Nei, 1978) entre as populações amostradas, construiu-se um dendrograma pelo método UPGMA (Figura 4).

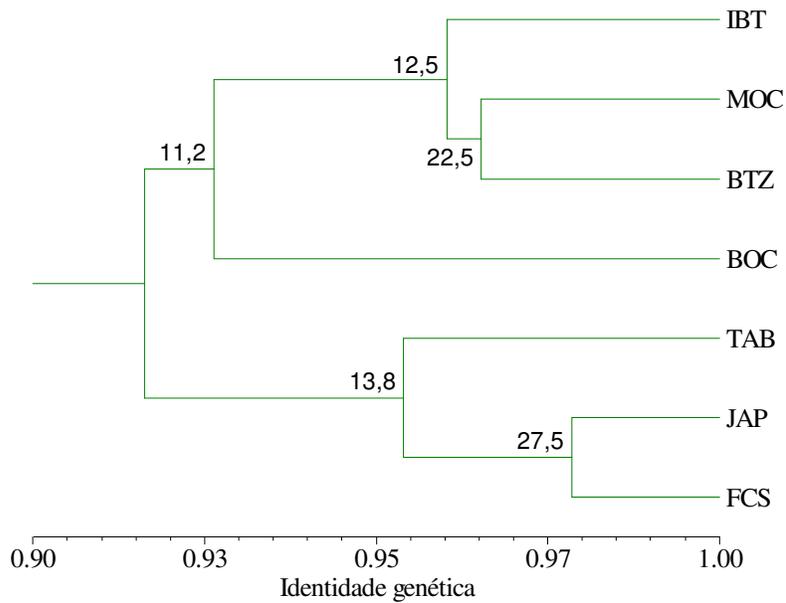


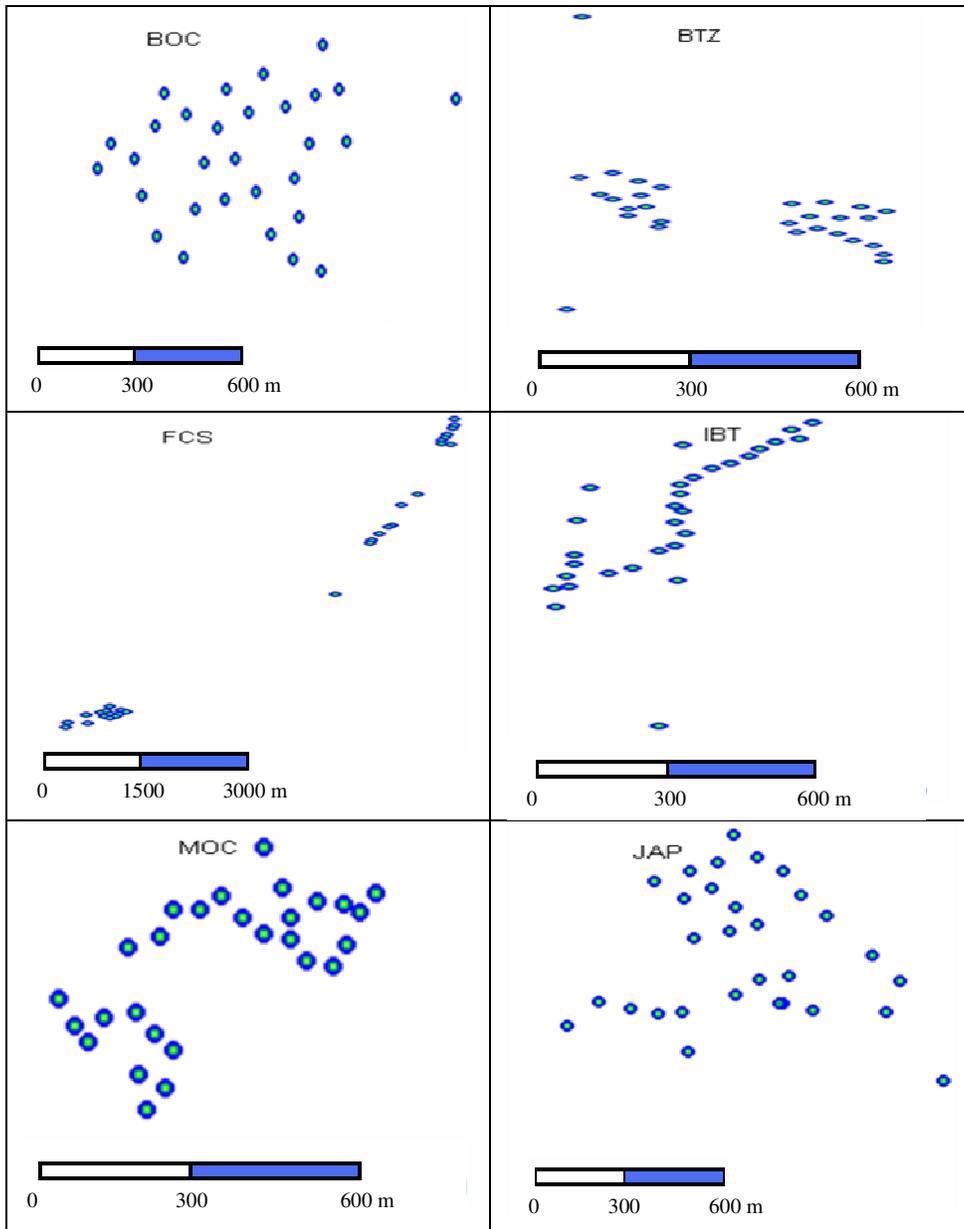
FIGURA 4 Dendrograma UPGMA das populações de *C. brasiliense* amostradas, calculado de acordo com a identidade genética de Nei (Nei, 1978). Os números acima dos nós indicam a consistência dos mesmos, após 1000 permutações. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

Pela análise do dendrograma, percebe-se a formação de dois agrupamentos principais: o grupo I, com as populações IBT, MOC, BTZ e BOC e o grupo II, com as populações TAB, JAP e FCS. Entretanto, ambos os grupos apresentaram baixa consistência (inferior a 30%), não dando sustentação à formação dos agrupamentos, corroborando com a hipótese de que as populações faziam parte de uma população contínua..

O resultado do Teste de Mantel, após 1.000 permutações, revelou não haver correlação significativa entre a divergência genética e a distância geográfica ($r = -0,067$; $P = 0,416$) entre as populações de *Caryocar brasiliense*. Dessa forma, refuta-se a hipótese de isolamento por distância. Collevatti (2001) analisou 10 populações (num total de 314 indivíduos) naturais de *C. brasiliense*, por meio de microssatélites, encontrando correlação positiva e significativa ($r = 0,518$; $P = 0,0396$) entre distância genética e distância geográfica. Entretanto, os autores amostraram populações naturais ao longo de toda a distribuição geográfica da espécie.

4.3 Estrutura genética espacial dos genótipos

A posição e a distribuição espacial das plantas dentro das populações são apresentadas na Figura 5.



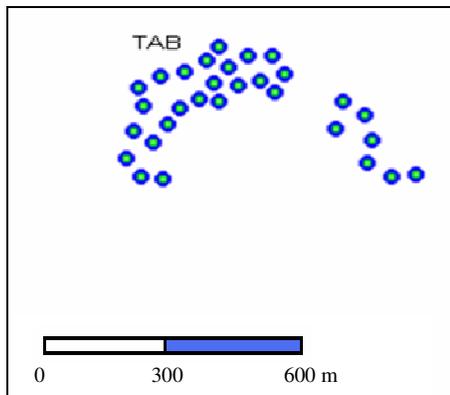
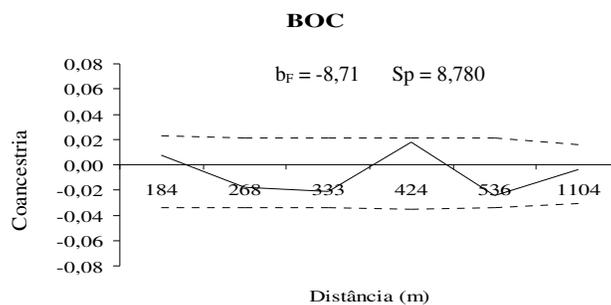
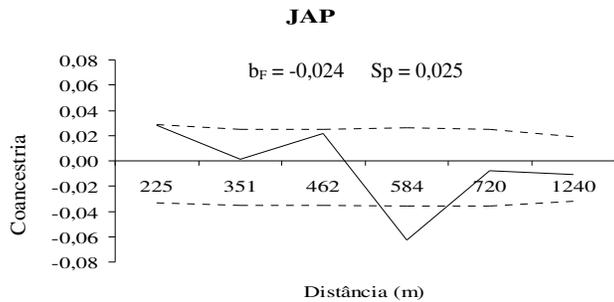
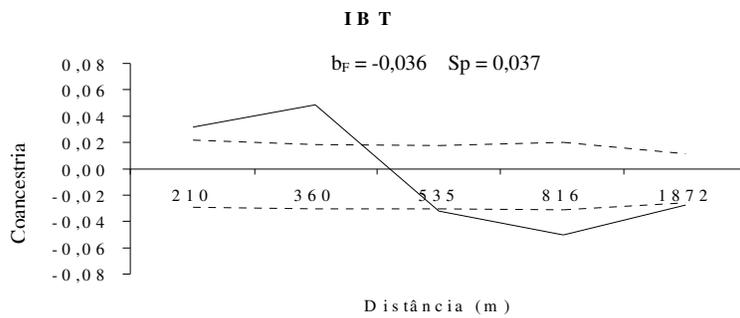
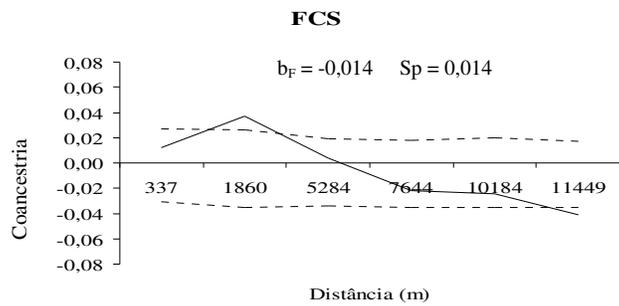
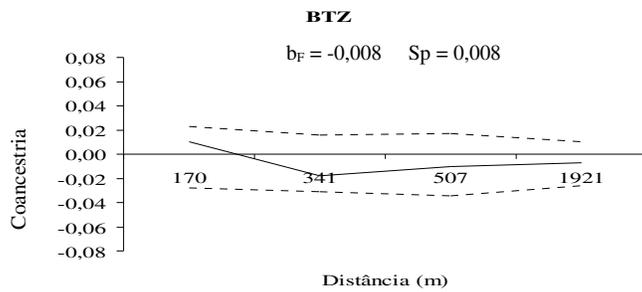


FIGURA 5 Posição e distribuição espacial de árvores de *Caryocar brasiliense* Camb. em populações amostradas no Norte de Minas Gerais. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

Por meio da Figura 5 observa-se maior amplitude de amostragem (intervalos de 100 m entre cada planta amostrada) nas populações FCS, BOC e JAP, em comparação com as populações IBT, MOC, BTZ e TAB (intervalos de 50 m entre cada planta amostrada).

A distribuição espacial dos genótipos de *C. brasiliense*, dentro de cada população, obtida por meio do coeficiente kinship de coancestria (Hardy, 2003) entre plantas, para cada classe de distância é apresentada na Figura 6.





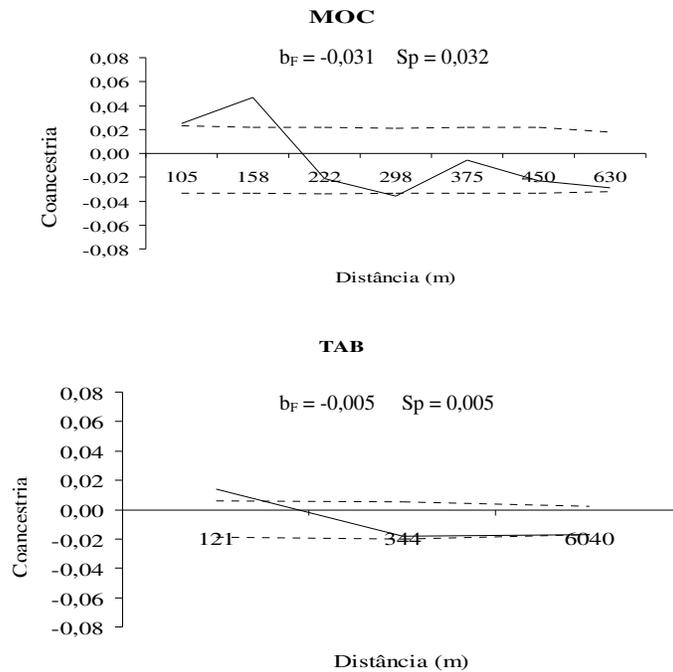


FIGURA 6 Correlogramas do coeficiente de coancestria (kinship) por classes de distância para indivíduos de *Caryocar brasiliense*; ---- intervalo de confiança a 95% de probabilidade. BOC: Bocaiúva, BTZ: Buritizeiro, FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

Ausência de estruturação genética significativa ($P > 0,05$) foi observada somente nas populações BTZ e BOC, denotando uma distribuição aleatória dos genótipos dentro destas populações. Nas demais populações rejeitou-se a hipótese nula de distribuição aleatória da estrutura genética, pois os coeficientes de coancestria foram baixos e significativos ($P < 0,05$) e os valores de b_F foram diferentes de zero e significativos, a 95% de probabilidade (Tabela 9).

TABELA 9 Valores de Sp e de b_F nas populações de *Caryocar brasiliense* Camb. que apresentaram distribuição espacial não aleatória. FCS: Francisco Sá, IBT: Ibiracatu, JAP: Japonvar, MOC: Montes Claros e TAB: Taiobeiras.

População	b_F	Sp	P
FCS	-0,014	0,014	0,029
IBT	-0,036	0,037	0,001
JAP	-0,024	0,025	0,041
MOC	-0,031	0,032	0,002
TAB	-0,005	0,005	0,009

Na população IBT, os coeficientes de coancestria foram significativos em todas as classes de distâncias, assumindo valores de 0,032 (P = 0,001) e 0,049 (P = 0,001) nas duas primeiras classes, respectivamente (0 a 210 m e 210 a 360 m) e negativos e significativos, com valores de -0,032 (P = 0,038), -0,050 (P = 0,002) e -0,028 (P = 0,038) nas demais classes de distância (360 a 535 m, 535 m a 816 m e 816 m a 1.872 m), respectivamente.

Na população FCS, os coeficientes de coancestria foram significativos somente na segunda classe de distância (337 m a 1.860 m), com valor de 0,037 (P = 0,012) e na última classe de distância (10.184 m a 11.449 m), com valor de -0,041 (P = 0,030).

Na população JAP, a coancestria observada foi significativa apenas na quarta classe de distância (462 m a 584 m), assumindo o valor de -0,063 (P = 0,001).

Na população MOC, os coeficientes de coancestria também foram positivos e significativos, 0,025 (P = 0,038) e 0,047 (P = 0,001), nas duas primeiras classes de distância (0 a 105 m e 105 m a 158 m), respectivamente. Na quarta classe de distância (222 a 298 m), o coeficiente de coancestria foi

negativo e significativo (-0,036; $P = 0,035$). Nas demais classes, os valores de coancestria estimados não foram significativos.

Na população TAB, o valor de coancestria foi positivo e significativo (0,014; $P = 0,003$) na primeira classe de distância (0 a 121 m) e negativo e significativo (-0,017; $P = 0,047$) na última classe de distância (344 a 6.040 m).

O padrão da estrutura genética espacial foi semelhante nas populações IBT, MOC, TAB e FCS: indivíduos mais próximos geograficamente foram mais similares geneticamente (coancestria positiva) e, com o aumento da distância geográfica, houve redução na similaridade (coancestria negativa) entre os indivíduos.

Na população JAP pode-se afirmar que indivíduos mais distantes geograficamente são distantes também geneticamente, mas não foi observada similaridade genética entre indivíduos próximos.

A constatação de distribuição aleatória dos indivíduos nas populações BTZ e BOC permite supor que o fluxo alélico ocorre em quantidade suficiente para impedir divergências aleatórias das frequências alélicas locais (Doligez & Joly, 1997).

Nas populações IBT, MOC, TAB, FCS e JAP, a presença de estruturação genética espacial deve ocorrer em resposta à restrita dispersão de sementes da espécie, sendo também agravada pela degradação das áreas amostradas, o que diminui o número de indivíduos e, provavelmente, das populações de polinizadores e dispersores (Aizen & Feinsinger, 1994; Fuchs et al., 2003; Bacles et al., 2004).

As estatísticas S_p permitem a comparação direta dos padrões da estrutura genética espacial entre populações, espécies e estudos, mesmo aqueles com diferentes esquemas de amostragem (Wallace, 2006). Nas populações que apresentaram estruturação genética espacial significativa, os valores de S_p (Tabela 9) variaram de 0,005 (TAB) a 0,037 (IBT). A maior estruturação

espacial foi encontrada nas populações MOC e IBT ($Sp = 0,032$ e $0,037$, respectivamente). Os contrastes na intensidade da estrutura genética entre as populações poderiam ser explicados por diferenças nas populações de polinizadores e de dispersores, por diferenças nas taxas de recrutamento (variando a influência da restrita dispersão das sementes) ou, ainda, pelas densidades populacionais nas áreas amostradas. Essas informações, porém, não foram contempladas no presente estudo.

O valor médio ($0,023$) de Sp foi próximo ao de espécies de fecundação cruzada ($0,013$) (Vekemans & Hardy, 2004).

O valor de Sp também foi próximo ao encontrado por Epperson (2000), em *Rhus javanica*, espécie que, como o pequizeiro, é de polinização zoocórica e dispersão mista (barocórica e zoocórica) (Epperson, 2000).

O conhecimento da estruturação genética espacial populacional fornece importantes informações para a definição de estratégias de amostragem para fins de conservação ou de melhoramento genético. Assim, coletas de sementes visando à conservação *ex situ* ou o melhoramento genético, poderiam ser realizadas a distâncias mínimas de 50 m e 100 m – pois a estruturação genética espacial não foi testada para distâncias inferiores a estas - entre indivíduos nas populações BTZ e BOC, respectivamente, dada a ausência de estruturação genética espacial. A mesma situação se aplica às populações FCS e JAP, que apresentaram distribuição aleatória dos indivíduos na primeira classe de distância. Nestas populações, a coleta de sementes poderia ser efetuada a distâncias mínimas de 100 m entre indivíduos. Já nas populações IBT, MOC e TAB, que mostraram estruturação genética espacial significativa nas primeiras classes de distância, a coleta de sementes, visando captar a maior variabilidade genética, deveria ser efetuada com distâncias mínimas entre os indivíduos de 360 m, em Ibiracatu (IBT), 158 m em Montes Claros (MOC) e 121 m em Taiobeiras (TAB).

Baseando-se apenas no resultado da estrutura genética espacial, nas populações FCS, IBT, JAP, MOC e TAB, que apresentaram distribuição espacial não aleatória, estratégias de conservação *in situ* devem abranger toda a área ocupada por essas populações. Nas populações BOC e BTZ, a conservação *in situ* poderia ser efetuada em áreas menores. Entretanto, estratégias de conservação não devem ser realizadas com base apenas nos resultados da estruturação genética espacial. A eles devem ser somados o conhecimento dos níveis de diversidade dentro e entre as populações, os quais fornecem uma perspectiva histórica das mudanças evolutivas que caracterizam uma espécie, permitindo previsões sobre como as populações se comportarão quando sujeitadas a futuros eventos de origem natural e artificial (Wallace, 2002). Assim, como mais de 80% da diversidade genética distribui-se dentro das populações, a conservação *in situ* de cinco populações estrategicamente escolhidas pode conservar 99% de sua diversidade genética total (Hamrick, 1993) e, para a coleta de sementes visando à conservação *ex situ*, a estratégia mais adequada consiste na seleção de um pequeno número de populações e no aumento da quantidade de indivíduos amostrados por população.

5 CONCLUSÕES

- As populações estudadas apresentaram elevados níveis de diversidade genética que se mostrou distribuída majoritariamente dentro das populações.
- A baixa diversidade entre as populações pode ser explicada pelo elevado fluxo alélico detectado entre elas.
- Não foi detectada correlação entre a distância genética e a distância geográfica entre as populações amostradas.
- O estudo da estrutura genética espacial revelou que, nas populações IBT, MOC, TAB e FCS, o grau de parentesco é maior entre indivíduos próximos geneticamente e decresce com o aumento da distância geográfica entre eles. Na população JAP, os indivíduos mostraram distribuição aleatória nas primeiras classes de distância e menor parentesco com o aumento da distância entre indivíduos. Nas populações BTZ e BOC, os indivíduos distribuíram-se de maneira aleatória em todas as classes de distâncias.
- Com base nos resultados da estrutura genética espacial, aconselham-se, para captar maior diversidade genética nas coletas de sementes objetivando a conservação *ex situ* ou melhoramento genético, coletas com distâncias mínimas de 50 m entre indivíduos na população BTZ; 100 m entre indivíduos nas populações BOC, FCS e JAP, e 360 m, 158 m e 121 m entre indivíduos nas populações IBT, MOC e TAB, respectivamente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elevada diversidade genética observada nas populações amostradas pode representar um alento em relação às preocupações com a conservação do pequizeiro. Entretanto, esses resultados podem se dever ao fato de a fragmentação dos cerrados ser um evento relativamente recente (aproximadamente 70 anos), de modo que perdas de diversidade podem vir a ocorrer em longo prazo. É evidente que o extrativismo intensivo dos frutos do pequizeiro diminui as taxas de recrutamento. Além disso, várias áreas no Norte de Minas Gerais, incluindo quatro do presente estudo, têm sido visitadas várias vezes, nos últimos seis anos, para a realização de estudos da biometria do pequizeiro (Lopes et al., 2006), o que permitiu a observação de um aumento na incidência de pragas e de doenças (broca do caule, mal do cipó, broca do fruto) na espécie.

Dessa forma, o enriquecimento de áreas do Cerrado, por meio do plantio de mudas de pequizeiro é uma ação necessária à conservação da espécie. Em virtude da implantação de programas de conservação genética para o pequizeiro, deve-se pensar em formas que possibilitem sua exploração sustentável, haja vista a importância socioeconômica de seu fruto para as populações carentes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIZEN, M.A.; FEINSINGER, P. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine. **Ecological Applications**, Chaco Serrano, v.4, n.2, p.378-392, 1994.
- APTE, G.S.; BAHULIKAR, R.A.; KULKAMI, R.S.; LAGU, M.D.; KULKARNI, B.G.; SURESH, H.S.; RAO, P.S.N.; GUPTA, V.S. Genetic diversity analysis in *Gaultheria fragrantissima* Wall. (Ericaceae) from the two biodiversity hotspots in India using ISSR markers. **Current Science**, v.91, n.12, p. 1634-1640, 2006.
- ALENCAR, G. Pequizeiros enfrentam riscos de extinção. **Hoje em Dia**, Belo Horizonte, p. 07, 13 de fev. 2000.
- ALLENDORF, F.W.; LUIKART, G. **Conservation and the genetics of populations**. Oxford: Blackwell, 2007. 642p.
- ALMEIDA, S.P. de; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.P. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.
- ALMEIDA, S.P. de; SILVA, J.A. **Piqui e Buriti: importância alimentar para a população dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1994. 38p. (EMBRAPA-CPAC. Documentos, 54).
- ALMEIDA, S.P. de, J.A.; SILVA; RIBEIRO, J.F. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1987. 83p.
- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 203p.
- ARAÚJO, F.D. de. **The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. Around Montes Claros, MG, Brasil**. 1994. 175p. Tese (Doutorado em Filosofia) - University of Oxford, Oxford.
- BACLES, C. F. E.; LOWE, A. J.; ENNOS, A. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. **Molecular Ecology**, v.13, p.573-584, 2004.

- BARBOSA, A.S. **Sistema biogeográfico do cerrado**: alguns elementos para a sua caracterização. Goiânia: UCG, 1996. 44p.
- BARRADAS, M.M. Informações sobre floração, frutificação e dispersão do piqui *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). **Ciência e Cultura**, v.24, n.11, p.1063-1068, 1972.
- BARRADAS, M.M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui), em várias fases do desenvolvimento. **Revista de Biologia**, v.9, n.1-4, p.69-95, 1973.
- BARRETT, S.C.H.; KOHN, J.R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. (Ed.). **Genetics and conservation of rare plants**. New York: Oxford University, 1991. p.3-30.
- BERG, E.E.; HAMRICK, J.L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v.27, n.3, p.415-424, Mar. 1997.
- BIERREGAARD, R.O. Jr.; DALE, V.H. Islands in an ever-changing sea: the ecological and socioeconomic dynamics of Amazonian rainforest. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington: Island, 1996. p.187-204.
- BIERREGAARD, R.O. Jr.; LOVEJOY, T.E.; KAPOV, V.; SANTOS, A.A. dos, HUTCHINGS, R.W. The biological dynamics of tropical rainforest fragments. **BioScience**, v.42, p.859-866, 1992.
- BLAIR, M.W.; PANAUD, O.; McCOUCH, S.R. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.98, p.780-792, 1999.
- BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. de. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, p.621-627, 2004.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3.ed. Fortaleza, CE: Imprensa Oficial, 1976. 540p.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CTI, 1985. p.163-194.

BRANDÃO, M. **Guia ilustrado de plantas do cerrado**. São Paulo: Nobel/CEMIG, 2001. 96p.

CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**: estudo das oleaginosas nativas de Minas Gerais. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Ciência e Tecnologia, 1983. p.154-246. (Boletim, 1).

CLOUTIER, D.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A. Y.; SCHOEN, D.J. Impact of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl. **Molecular Ecology**, v.16, p.797-809, 2007.

COLLEVATTI, R.G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J.D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. **Molecular Ecology**, v.10, p.349-356, 2001.

COMES, H.P.; KADEREIT, J.W. The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. **Trends in Plant Science**, v.3, p.432-438, 1998.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. v. 6.

CULLEY, T.M.; WOLFE, A.D. Population genetic structure of the cleistogamous plant species *Viola pubescens*, as indicated by isozyme and ISSR molecular markers. **Heredity**, v.86, n.5, p.545-556, 2001.

DESHPANDE, A.U.; APTE, G.S.; BAHULIKAR, R.A.; LAGU, M.D.; KULKARNI, B.G.; SURESH, H.S.; SINGH, N.P.; RAO, M.K.V.; GUPTA, V.S.; PANT, A.; RANJEKAR, P.K. Genetic diversity across the natural populations of three montane plant species from the WG, India revealed by ISSR repeats. **Molecular Ecology**, v.10, p.2397-2408, 2001.

DOLIGEZ, A.; JOLY, H.I. Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. **Heredity**, London, v.79, n.2, p.72-82, Feb. 1997.

DOLIGEZ, A.; BARIL, C.; JOLY, H. I. Fine-scale spatial genetic structure with nonuniform distribution of individuals. **Genetics**, v.148, p.905-919, Feb. 1998.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.

EITEN, G. Vegetação do cerrado. In: PINTO, M.N. (Ed.). **Cerrado: caracterização ocupação e perspectivas**. 2.ed. Brasília: UNB, 1993. p.17-73.

EPPERSON, B.K. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant populations. **Plant Species Biology**, v.15, p.269-279, 2000.

EPPERSON, B.K. Spatial structure of two-locus genotypes under isolation by distance. **Genetics**, Austin, v.140, n.1, p.365-375, May 1995.

EHRlich, P.R. The loss of diversity: causes and consequences. In: WILSON, E.O. (Ed.). **Biodiversity**. Washington: Natl. Academic, 1988. p.29-35.

ESSELMAN, E.J.; JIANQIANG, L.; CRAWFORD, D.J.; WINDUS, J.L.; WOLFE, A.D. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *Insperrata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, v.8, p.443-451, 1999.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin**: a software for population data analysis. Version 3.1. Geneva: University of Geneva, 2007. Disponível em: <<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>>. Acesso em: 10 fev. 2007.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v.131, p.179-191, 1992.

FANG, D.Q.; ROOSE, M.L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.95, p.408-417, 1997.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

FERREIRA, M.B. Frutos comestíveis nativos de cerrado em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.6, n.61, p.9–18, jan. 1980.

FINESCHI, S.; COZZOLINO, S.; MIGLIACCIO, M.; VENDRAMIN, G.G. Genetic variation of relec tree species: the case of Mediterranean *Zelkova abelicea* (Lam.) Boissier and *Z. sicula* Di Pasquale, Garfi and Quézel (Ulmaceae). **Forest Ecology and Management**, v.197, p.273-278, 2004.

FUCHS, E.J.; LOBO, J.A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, Arlington, v. 17, p.149-157, 2003.

GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento, e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrella fissilis* Vell.** (Meliáceas). 1996. 69p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade de Campinas, Campinas, SP.

GE, X. J.; SUN, M. Population genetic structure of *Ceriops tagal* (Rhizophoraceae) in Thailand and China. **Wetlands Ecology and Management** v.9, p.203-209, 2001.

GE, X. J.; YU, Y.; YUAN, Y. M.; HUANG, H. W; YAN, C. Genetic diversity and geographic differentiation in endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) populations in desert regions of northwest China as revealed by ISSR analysis. **Annals of Botany**, v.95, p.843–851, 2005.

GOMES, M.A.O.; AMÂNCIO, R. (Coord.). **Relatório do diagnóstico participativo de agroecossistemas**. Lavras: UFLA/DAE, 1995. 196p.

GONZALES, E.; HAMRICK, J. L. Distribution of genetic diversity among disjunct populations of the rare forest understory herb, *Trillium reliquum* **Heredity**, London, v.95, n.4, p.306-314, Oct. 2005.

GRIBEL R.; HAY J.D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) in Central Brazil cerrado vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, v. 9, p.199-211, 1993.

GRIBEL, R. **Ecologia da polinização e da dispersão de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) na região do Distrito Federal. Brasília.** 1986. 109p. Dissertação. (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília.

HAMRICK, J.L. Genetic diversity and conservation in tropical forest. In: ASEAN-CANADA SYMPOSIUM ON GENETIC CONSERVATION AND PRODUCTION OF TROPICAL TREE SEED. DRYSDALE, 1993, Saraburi, Thailand. **Proceeding...** Saraburi, Thailand: ASEAN-Canada Forest Tree Center, 1993. p. 1-9.

HAMRICK, J.L. The distribution of Genetic Variation within and among Natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C.M.; CAHAMBERS, S.H.; MacBYDE, B.; THOMAS, L. **Genetic and conservation.** Menlo Park: California: Benjamin Cummings, 1983. p.335-348.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Conservation genetics of endemic plant species. In: AVISE, J.C.; HAMRICK, J.L. (Ed.). **Conservation genetics: case histories from nature.** Chapman & Hall, 1996. p.281-304.

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

HAMRICK, J.L. Response of forest trees to global environmental changes. **Forest Ecology and Management**, v.197, p.323-335, 2004.

HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. The influence of seed dispersal mechanism on the genetic structure of plant populations. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T.H. (Ed.). **Frugivores and seed dispersal.** Dordrecht, The Netherlands: Dr. Junk, 1986. p.211-223.

HARDY, O.J. Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterisation of isolation by distance processes using dominant genetic markers. **Molecular Ecology**, v.12, p.1577-1588, 2003.

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p.618-620, 2002.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of population genetics**. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1997.

HERINGER, E.P. Pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Brasil Florestal**, Rio de Janeiro, v.1, p.28-31, 1970.

HEYWOOD, J.S. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.22, p.335-355, 1991.

HOWE, H. F.; SMALLWOOD, J. Ecology and seed dispersal. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.13, p.201-228, 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DESENVOLVIMENTO FLORESTAL. Portaria nº 094/87 de 31 de março de 1987. Proíbe o abate e a comercialização de pequizeiro (*Caryocar* sp.) em todo território nacional. **Diário Oficial** [da] República Federativa do Brasil, Brasília, v.125, n.63, p.4835, 3 de abril de 1987. Seção I.

JIN, Z.; JUNMIN, L. Genetic differentiation in endangered *Heptacodium miconioides* Rehd. Based on ISSR polymorphism and implications for its conservation. **Forest Ecology and Management**, v.245, p.130-136, 2007.

JIN, Y.; HE, T.; LU, B. Fine scale genetic structure in a wild soybean (*Glycine soja*) population and the implications for conservation. **New Phytologist**, v. 159, p. 513-519, 2003.

KANTETY, R.V.; ZENG, X.; BENNETZEN, J.L.; ZEHR, B.E. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. **Molecular Breeding**, v.1, p.365-373, 1995.

KAGEYAMA, P.; GANDARA, F.B.; SOUZA, L.M.I. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v.12, n.32, p.65-70, 1998.

KELLER, L.F.; WALLER, D.M. Inbreeding effects in wild population. **Trends in Ecology & Evolution**, v.17, n.5, p.230-241, 2002.

KELLY, B. A.; HARDY, O. J.; BOUVET, J. Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in an agroforestry system in southern Mali. **Molecular Ecology**, v.13, p.1231-1240, 2004.

- KEVIN, K.; NG, S.; LEE, L.; KOH, L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, n.5, p.657-669, May 2004.
- KIMURA, M.; CROW, J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. **Genetics**, v.49, p.725-738, 1964.
- KIMURA, M.; WEISS, G. The stepping-stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. **Genetics**, Baltimore, v.49, n.2, p.561-576, Apr. 1964.
- LABORIAU, L.G. Sobre a formação de novos biólogos de plantas no Brasil. **Biológico**, v.32, n.6, p.113-121, 1966.
- LAURANCE, W.F.; LAURANCE, S.G.; FERREIRA, L.V.; RANKIN-DE-MERONA, J.M.; GASON, C.; LOVEJOY, T.E. Biomass collapse in Amazonian forest fragments. **Science**, v.278, n.7, p.1117-1118, 1997.
- LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, v.74, n.6, p.1659-1673, 1993.
- LEWONTIN, R.C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, v.6, p.381-398, 1972.
- LIMA, M. T. **Caracterização química e física do fruto do piquizeiro (*Caryocar coriaceum* Wittm)**. 1980. 61 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.
- LIU, B.; WENDEL, J.F. Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. **Molecular Ecology Notes**, v.1, p.205-208, 2001.
- LOPES, P.S.N.; PEREIRA, A.V.; PEREIRA, E.B.C.; MARTINS, E.; FERNANDES, R.C. Pequi. In: VIEIRA, R.F.; AGOSINI-COSTA, T.S.; SILVA, D.B.; FERREIRA, F.R.; SANO, S.M. (Org.). **Frutas nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. v.1, 320 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1, 368 p.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Distribucion de la variacion en especies de arboles tropicales. **Revista Biologia Tropicales**, San Jose, v.35, n.1, p.165-175, 1987.

LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.15, p.65-95, 1984.

MARINHO FILHO, J. Mamíferos. In: UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA. **Ações prioritárias para a conservação do Cerrado e Pantanal: relatório técnico**. Brasília: UNB/GEF/MMA/CNPq, 1998. p.5-20. (FUNATURA, Conservation International, Biodiversitas).

MCCUNE, B.; MEFFORD, M.J. **PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, version 3.0**. Glenden Beach, Oreg: MjM Software, 1997.

McDERMOTT, J.M.; McDONALD, B.A. Gene flow in plant pathosystems. **Annual Review of Phytopathology**, v.31, p.353-373, 1993.

MELO JÚNIOR, A.F. **Variabilidade Genética em populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), caracterizado por meio de isoenzimas**. 2003. 82p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MELO JÚNIOR, A.F.; CARVALHO, D. de.; PÓVOA, J.S.R.; BEARZOTI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.66, p.56-65, dez. 2004.

MELO, J.T. de. **Fatores relacionados com a dormência de sementes de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba, SP.

MELO, J.T.; GONÇALVES, A.N. **Inibidores de germinação no fruto e em sementes de pequi**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1991. 11p. (Boletim de Pesquisa, 34).

MELONI, M.; PERINI, D.; FILIGHEDDU, R.; BINELLI, G. Genetic variation in five mediterranean populations of *Juniperus phoenicea* as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Annals of Botany**, v.97, p.299-304, 2006.

MILLER, M.P. **Tools for Population Genetic Analysis. Version 1.3.** Flagstaff, Arizona: Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, 1997.

MIRANDA, J. de S.; SILVA, H.; MATOS, M.A. de O. Emergência e vigor de sementes de pequi submetidas a pré-tratamentos mecânicos e térmicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. p.647-651.

MOURA, M.C.O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish por isoenzimas e RAPD.** 2005. 165p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MURCIA, C. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes.** Washington: Island, 1996. p.19-36.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A. B.; KENTS, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v.403, p.853-858, 2000.

MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand. - Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, Essex, v.89, n.4, p.273-279, Oct. 2002.

NAGAOKA, T.; OGIHARA, Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94, p.597-602, 1997.

NAVES, R.V. **Espécies frutíferas nativas dos Cerrados de Goiás: caracterização e influência do clima e dos solos.** 1999. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University, 1987. 512p.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.70, p.3321-3323, 1973.

NEIGEL, J.E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, Palo Alto, v.28, p.105-128, 1997.

NG, K.K.S.; LEE, S.L.; KOH, C.L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, n.3, p.657-669, Mar. 2004.

NIMER, E. **Climatologia do Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 1989. 422p.

NYBOM, H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. **Molecular Ecology**, v.13, p. 1143–1155, 2004.

NYBOM, H.; BARTISH, I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.3/2, p.93–114, 2000.

ODDOU-MURATORIO, S.; DEMESURE-MUSCH, B.; PÉLISSIER, R.; GOUYON, P. Impacts of gene flow and logging history on the local genetic structure of a scattered tree species, *Sorbus torminalis* L. Crantz. **Molecular Ecology**, v.13, p.3689-3702, 2004.

OLIVEIRA, A.K.B. **Variabilidade genética entre e dentro de populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) do Estado de Goiás. 1998. 105p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.**

PARSONS, B.J.; NEWBURY, H.J.; JACKSON, M.T.; FORD-LLOYD, B.V. Contrasting genetic diversity relationships are revealed in rice (*Oryza sativa* L.) using different marker types. **Molecular Breeding**, v.3, p.115-125, 1997.

PEAKALL, R.; EBERT, D.; SCOTT, L.J.; MEAGHER, P.F.; OFFORD, C.A. Comparative genetic study confirms exceptionally low genetic variation in the ancient and endangered relictual conifer, *Wollemia nobilis* (Araucariaceae). **Molecular Ecology**, v.12, p.2331-2343, 2003.

PINTO, S.I. de C.; SOUZA, A.M. de; CARVALHO, D. de. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, n.65, p.40-48, 2004.

PEREIRA, A.V.; PEREIRA, E.B.C.; JUNQUEIRA, N.T.V. Propagação e domesticação de plantas nativas do cerrado com potencial econômico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, jul. 2001. 1 CD-CROM. Suplemento.

PEREIRA, A.V.; SALVIANO, A.; PEREIRA, E.B.C.; SILVA, J.A.; SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.U. **Pequi**: produção de mudas. Embrapa Cerrados, 2000. 2p. (Recomendações Técnicas, 1).

POZO, O.V.C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*)**: uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. 1997. 100 p. Dissertação (Mestrado em Administração) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

PRANCE, G.T.; SILVA, M.F. **Caryocaraceae**. New York: Hafner, 1973. 75p. (Flora Neotrópica, Monograph, 12).

PREVOST, A.; WILKINSON, M. J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v.98, p.107-112, 1999.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v.80, p.223-330, 1997.

REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmito (*Euterpe edulis*)**. 1996. 209p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba,

RENAU-MORATA, B.; NEBAUER, S.G.; SALES, E.; ALLAINGUILLAUME, J.; CALIGARI, P.; SEGURA, J. Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica*

(Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA). **American Journal of Botany**, v.92, n.5, p.875-884, 2005.

RIBEIRO, J.F.; FELFILI, J.M.; PROENÇA, C.E.; AFFIN, O.A.
Levantamento da biodiversidade do bioma cerrado: um estudo para promover sua conservação em Alto Paraíso de Goiás-GO. 1994. (Relatório Técnico).

RIBEIRO, R.F. **Pequi, o rei do cerrado**: roendo o fruto sertanejo por todos os lados. Belo Horizonte: Rede Cerrado/Rede/Caanm/Campo Vale, 2000. 62p.

RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetics Research**, New York, v.67, n.2, p.175-185, Apr. 1996.

RIZZINI, C.T. Árvores e arbustos do cerrado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.26, n.38, p.63-77, 1971.

RIZZO, J.A. **Flora do Estado de Goiás**: plano de coleção. Goiânia: UFG, 1981. (Coleção Rizzo, 1).

ROBINSON, W.A.; LISTON, A.; DOESCHER, P.S.; SVEJCAR, T. Using ISSR markers to quantify clonal vs. sexual reproduction in *Festuca idahoensis* (Poaceae). **American Journal of Botany**, v.84, p.89, 1997. Abstract.

ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.11**. New York: Applied Biostatistics, 2000.

ROH, M.S.; CHEONG, E.J.; CHOI, I-Y; JOUNG, Y.H. Characterization of wild *Prunus yedoensis* analyzed by inter-simple sequence repeat and chloroplast DNA. **Scientia Horticulturae**, v.114, p.121-128, 2007.

RUGGIERO, M.V.; REUSCH, B.H.; PROCACCINI, G. Local genetic structure in a clonal dioecious angiosperm. **Molecular Ecology**, Oxford, v.14, n.4, p.957-967, Apr. 2005.

SÁ e CARVALHO, C.G.; CÔRTEZ, R.A.; CARNEIRO, I.F.; BORGES, J.D. Efeito de diferentes tratamentos na germinação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Botânica Brasileira**, v.1, n.8, p.109-120, 1994.

- SANTANA, J. G.; NAVES, R. V. Caracterização de ambientes de cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense* Camb.) na região sudeste do estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.33, v.1, p.1–10, 2003.
- SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOVSKY, R. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L., através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia Forestalis**, n.53, p.15-30, 1998.
- SETSUKO, S.; ISHIDA, K.; TOMARU, N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, n.9, p.2645-2653, Sept. 2004.
- SILVA, D.B. da; SILVA, J.A. da; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. **Frutas do Cerrado**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001. 178p.
- SILVA, J.A. da; SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. de. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 166p.
- SILVA, J.G.M. **Relações Solo-Vegetação como instrumento para o manejo da vegetação do cerrado no Triângulo Mineiro**. 1993. 136p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, MG.
- SIQUEIRA, J.C. Plantas do cerrado na medicina popular. **Jornal Brasileiro de Ciências**, v.2, n.8, p.41-44, 1982.
- TAN, F.; HUANG, Y.; GE, X.; SU, G.; NI, X.; SHI, S. Population genetic structure and conservation implications of *Ceriops decandra* in Malay Peninsula and North Australia. **Aquatic Botany**, v.81, p.175-188, 2005.
- TELLES, M.P.C.; VALVA, F.D.; BANDEIRA, L.F.; COELHO, A.S.G.; Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. – Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.1, p.123-129, 2003.
- TORGGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B.; TORGGLER, S.P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186p.

- UENO, S.; TOMARU, N.; YOSHIMARU, H.; MANABE, T.; YAMAMOTO, S. Genetic structure of *Camellia japonica* L. in an old-growth evergreen Forest, Tsushima, Japan. **Molecular Ecology**, v.9, p.647-656, 2000.
- VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H.C. Structure of allozyme variation in Nordic *Silene nutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, Oxford, v.81, n.3, p.357-371, Mar. 2004.
- VIEIRA, F.A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande – MG.** 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- VILELA, G.F. **Variações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae):** fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de frutos. 1998. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- WALLACE, L.E. Spatial genetic structure and frequency of interspecific hybridization in *Platanthera aquilonis* and *P. dilatata* (Orquidaceae) occurring in sympatry. **American Journal of Botany**, v.93, n.7, p.1001-1009, 2006.
- WALLACE, L.E. Examining the effects of fragmentation on genetic variation in *Platanthera leucophaea* (Orchidaceae): inferences from allozyme and random amplified polymorphic DNA markers. **Plant Species Biology**, v.17, p.37–49, 2002.
- WARD, M.; DICK, C.W.; GRIBEL, R.; LEMES, M.; CARON, H.; LOWE, A. J. To self, or not to selfy: a review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, London, v.95, n.4, p.246-254, Oct. 2005.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data.** Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1990. 377p.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531–6535, 1990.

- WHITMORE, T.C. **An introduction to tropical rain forests**. Oxford: Oxford University, 1990.
- WOLFE, A.D.; RANDLE, C.P. Relationships within and among species of the holoparasitic genus *Hyobanche* (Orobanchaceae) inferred from ISSR banding patterns and nucleotide sequences. **Systematic Botany**, v.26, n.1, p.120–130, 2001.
- WOLFE, A.D.; XIANG, Q-Y.; KEPHART, S.R. Diploid hybrid speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.95, p.5112-5115, 1998.
- WOLFE, A.D.; XIANG, Q-Y.; KEPHART, S. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable inter-simple sequence repeat markers. **Molecular Ecology**, v.7, p.1107-1125, 1998.
- WRIGHT, S. Breeding structure of populations in relation to speciation. **The American Naturalist**, Chicago, v.74, p.232-248, 1940.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, New York, v.15, n.4, p.323-354, 1951.
- WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, Baltimore, v.28, n.2, p.114-138, 1943.
- YANG, W. de OLIVEIRA, A.C.; GODWIN, I.; SCHERTZ, K.; BENNETZEN, J.L. Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity: variability in Chinese sorghums. **Crop Science**, v.36, p.1669-1676, 1996.
- YOUNG, A.G.; BOYLE, T.J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO, 2000. p.123-135.
- YEH, F.C.; YANG, R.C.; BOYLE, T.B.J.; YE, Z.H.; MAO, J.X.; **POPGENE, the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis**. Edmonton, Alberta, Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, 1997.

ZANETTINI, M.H.B.; CAVALLI, S.S. Variabilidade genética em função do modo de reprodução. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre, RS: UFRGS, 2003. p.177-187.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored PCR amplification. **Genomics**, v.20, p.176–183, 1994.

ZIMBACK, L.; MORI, E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VEIGA, R.F. de A.; MELLO JÚNIOR, J.R.S. Estrutura genética de populações de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. **Scientia Forestalis**, n.65, p.114-119, 2004.