

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM
POPULAÇÕES NATURAIS DE PEQUIZEIRO
(*Caryocar brasiliense* Camb.)
CARACTERIZADA POR MEIO DE
ISOENZIMAS**

AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

2003

AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

**VARIABILIDADE GENÉTICA EM
POPULAÇÕES NATURAIS DE PEQUIZEIRO
(*Caryocar brasiliense* Camb.)
CARACTERIZADA POR MEIO DE
ISOENZIMAS**

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 obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

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

Melo Júnior, Afrânio Farias de

Variabilidade de genética em populações naturais de pequizeiro (*Caryocar
brasiliense* Camb.) caracterizada por meio de isoenzimas / Afrânio Farias de
Melo Júnior. – Lavras : UFLA, 2003.

82p. : il.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Variabilidade genética. 2. Isoenzima. 3. *Caryocar brasiliense*. 4.
Autocorrelação espacial de genótipos. 5. Tamanho efetivo populacional. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.973166

AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

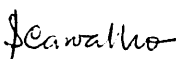
**VARIABILIDADE GENÉTICA EM
POPULAÇÕES NATURAIS DE PEQUIZEIRO
(*Caryocar brasiliense* Camb.)
CARACTERIZADA POR MEIO DE
ISOENZIMAS**

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 obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2001.

Prof. Eduardo Bearzoti - UFLA

Prof. Sebastião Carlos da Silva Rosado - UFLA


Profª. Dulcineia de Carvalho - UFLA
Orientadora

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

À minha Mãe e a Patrícia,

OFEREÇO.

Aos agricultores sertanejos.
coletores de pequi.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À Professora Dulcinéia de Carvalho pela orientação, dedicação, amizade e pelo grande apoio nos momentos difíceis, que serão inesquecíveis.

A minha mãe, minha noiva Patrícia e a toda minha família pelo apoio incondicional.

Aos grandes amigos, Joema e Lucas, pelo apoio inestimável, amizade e grande colaboração para realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório: Anderson, Karem, Maria Carolina, Regiane, Sheila, Calouro, Vássia, Izaías, Floriana, Fernanada, Livia, Ana Carolina, Adelson, Peterson, Evânia e, em especial, Marcinha (Zeca e Gabriel).

Ao Professor Paulo Sérgio e Catapau pela grande ajuda no campo, e ao Magela da Emater nos trabalhos em Japonvar.

Aos Professores Eduardo Bearzoti e Rosado, cujas observações e sugestões feitas contribuíram ao enriquecimento deste trabalho.

Aos amigos “diamantes” Edmilson, Paulo Dalanesi e Vivi, Bodinho, Nelinho, Cabacinha, Jodnes, Luiz e a todos os Gabirus.

Aos colegas de república Fred, Iran e Virgílio, pela excelente convivência, amizade e incentivo.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

A todos os colegas e amigos com que convivi nestes dois anos de curso, em especial Serginho, Bruno, René, Márcia Regina, Livia, Daniel, Paulinho, Rafael, Karime, Paloma, Fernanda, Guilherme, Alini, Alíria, Chica, Fernando Bonillo, Marco Antônio, Júnior, Lílian, Marcelo, Cenzinho, Waguinho, Letícia, Josina, Lílian e Gláucia da Secretaria, Luquinha, Cláudio e Samurai.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 Fragmentação de biomas tropicais	03
2.2 O cerrado e a perda de biodiversidade	04
2.3 A espécie <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.	06
2.4 Marcadores genéticos isoenzimáticos	11
2.5 Variabilidade genética	14
2.6 Estrutura genética	15
2.7 Fluxo gênico	18
2.8 Tamanho efetivo (N_e)	20
2.9 Autocorrelação espacial	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Locais de estudo	25
3.2 Procedimentos de amostragem	26
3.3 Procedimentos de extração e análise eletroforética	28
3.4 Interpretação dos zimogramas	30
3.5 Análises estatísticas	30
3.5.1 Caracterização da variabilidade genética	30
3.5.1.1 Estimação das frequências alélicas	31
3.5.1.2 Estimação dos índices de diversidade	31
3.5.2. Estrutura genética das populações	33
3.5.2.1 Estatísticas F	34

3.5.2.2. Coeficiente de coancestralidade	35
3.5.3 Aderência das frequências genóticas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg	37
3.5.4 Estimativa do fluxo gênico (\hat{N}_m)	38
3.5.5 Estimação do tamanho efetivo (\hat{N}_e)	39
3.5.6 Distribuição espacial dos genótipos	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Sistemas enzimáticos	43
4.2 Caracterização da variação genética	45
4.2.1 Frequências alélicas	45
4.2.2 Índices de diversidade genética	47
4.3 Estrutura genética	51
4.4 Aderência das frequências ao Equilíbrio de Hard-Weinberg (EHW)	54
4.5 Fluxo gênico (\hat{N}_m)	56
4.6 Tamanho efetivo	57
4.7 Autocorrelação espacial dos genótipos	59
5 CONCLUSÕES	70
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

RESUMO

MELO JÚNIOR, Afrânio Farias de. **Variabilidade genética em populações naturais de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) caracterizada por meio de isoenzimas**. 2003. 81p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

O *Caryocar brasiliense* Camb. é uma frutífera de ocorrência comum nos Cerrados, de grande importância na região Norte de Minas Gerais. Entretanto, a fragmentação das áreas de Cerrado e o extrativismo intensivo colocam em risco a conservação dessa espécie. Com o objetivo de determinar os níveis de variabilidade dentro e entre populações, o fluxo gênico, o tamanho efetivo e a distribuição espacial dos genótipos, foram estudadas quatro populações naturais de *C. brasiliense*, por meio de isoenzimas. Essas populações localizam-se nos municípios de Japonvar, Montes Claros, Francisco Sá e Bocaiúva. Em cada uma das populações foram amostrados 60 indivíduos. Pela análise isoenzimática, foram obtidos 10 locos e 30 alelos. Os resultados revelaram 100% de polimorfismo (P) nas populações, sendo o limite de frequência igual ou superior a 0,99. O número médio de alelos por loco (A) nas populações variou de 2,6 a 3,0, e foram encontrados elevados níveis de heterozigosidade esperada (\hat{H}_e), que variou de 0,450 a 0,530, e heterozigosidade observada (\hat{H}_o), que variou de 0,583 a 0,817. Verificou-se ausência de endogamia dentro ($\hat{f} = -0,449$) e no conjunto das populações ($\hat{F} = -0,420$). O estudo de variabilidade revela baixa divergência entre as populações ($\hat{\theta}_p = 0,020$); entretanto, a população de Francisco Sá apresentou significativa divergência ($\hat{\theta}_p = 0,015$) das demais populações. A maioria dos locos estudados não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg. O fluxo gênico medido pelo número de migrantes (\hat{N}_m) foi alto, 5,16 em média. As estimativas de tamanho efetivo (\hat{N}_e) foram superiores ao número de indivíduos amostrados, sendo 82 o número recomendado de indivíduos para que se garanta a variabilidade genética nas sementes. O estudo de autocorrelação espacial revela que os genótipos estão distribuídos aleatoriamente nas populações.

¹ Comitê orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Eduardo Bearzoti - UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

MELO JÚNIOR, Afrânio Farias de. **Genetic variability in natural population of pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) characterized by isozymes.** 2003. 81p. Dissertation (Master in Forest Engineering) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

The species *Caryocar brasiliense* Camb is a common fruitful in Cerrado, of great importance in Northern Minas Gerais. However, the fragmentation of the areas of Cerrado, and the intensive exploitation put in risk the conservation of this species. The objective of this research was to determine the variability levels maintained in the populations, the gene flow, the spatial distribution of the genotypes and the effective size populations of *C. brasiliense*, by isozymes. Such populations are located in the municipal districts of Japonvar, Montes Claros, Francisco Sá, and Bocaiúva. In each one of the populations 60 individuals were sampled. Ten enzymatic systems were evaluated in the populations (total of 30 alleles). The results revealed 100% of polymorphism (P) in populations. The average number of alleles per locus (A) in the populations varied from 2.6 to 3.0 and the expected heterozygosity (\hat{H}_e) ranged from 0.450 to 0.530 and the observed heterozygosity (\hat{H}_o) from 0.583 to 0.817. The analysis didn't reveal inbreeding in the populations ($\hat{F} = -0.420$). The variability study demonstrated low divergence between populations ($\hat{\theta}_p = 0.020$): however, the population from Francisco Sá demonstrated significant divergence ($\hat{\theta}_p = 0.015$) from the others populations. The majority of the loci studied were not at Hardy-Weinberg Equilibrium. The gene flow evaluated as number of migrants (\hat{N}_m) was 5.16. The effective size (\hat{N}_e) were greater than size of samples, being 82 the recommend number of individuals to guarantee the genetic variability with seeds. The spatial autocorrelation study showed that the genotypes have a random distribution in populations.

¹ Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Supervisor), Eduardo Bearzoti - UFLA (Co-supervisor).

1 INTRODUÇÃO

O cerrado vem sofrendo acelerado processo de fragmentação nos últimos anos, principalmente em decorrência da expansão urbana e das atividades ligadas ao crescimento populacional. As implicações diretas da fragmentação sobre a biodiversidade são a redução indiscriminada das áreas dos biomas e a extinção de espécies, além do comprometimento evolutivo das espécies em função da perda de variabilidade genética, que reduz a capacidade que as populações naturais têm de se adaptarem às mudanças ambientais.

Neste contexto destaca-se o cerrado, que constitui uma grande fonte de recursos biológicos de fauna e flora, ocupando aproximadamente 22% do território nacional, dos quais 90% estão situados nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Bahia (Fonseca & Muniz, 1992), sendo que, em Minas Gerais, 53% de sua cobertura vegetal é representada por este bioma (Costa Neto, 1990).

O cerrado detém uma das maiores diversidades biológicas do planeta, e tem sofrido grande redução de sua área nas últimas décadas, colocando em risco a existência de inúmeras espécies. Apesar de possuir grande diversidade de flora, incluindo inúmeras frutíferas de importância extrativista para os habitantes dos cerrados, os estudos deste bioma têm contemplado um número relativamente baixo de espécies, no que se refere à conservação genética, se comparado a outros ecossistemas.

→ Uma das plantas que tem se destacado nesse bioma é o pequizeiro, *Caryocar brasiliense* Camb., que é uma frutífera de grande importância na região Norte de Minas Gerais, onde o extrativismo dos seus frutos é de grande relevância para a alimentação do sertanejo, além de representar uma importante fonte de renda (Chávez Pozo, 1997).

Entretanto, a expansão das fronteiras agrícolas e a exploração intensiva dos cerrados para produção de carvão vegetal nativo têm colocado em risco a preservação e a variabilidade genética do pequizeiro. Aliado a isso, o extrativismo intensivo do pequizeiro pode gerar perdas de material genético, já que quase todos os frutos de qualidade, originados de genótipos superiores, são coletados e consumidos ou comercializados, o que impede a reprodução natural a partir destes frutos.

Dessa forma, a caracterização dos níveis de variabilidade e estruturação genética, bem como o entendimento da dinâmica de movimentação de alelos nas populações naturais da espécie, podem trazer subsídios para a maximização de estratégias de conservação e o acompanhamento do processo de extrativismo da espécie.

Assim, nessa perspectiva, e considerando a importância da espécie, foram estudadas quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. na região Norte de Minas Gerais, nos municípios de Japonvar, Montes Claros, Francisco Sá e Bocaiúva, quanto à distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações, a partir da eletroforese de isoenzimas.

Os objetivos foram quantificar os níveis de diversidade genética dentro e entre populações naturais desta espécie; verificar a aderência das proporções genotípicas ao equilíbrio de Hardy-Weinberg; determinar o fluxo gênico inter e intra-populacionais e o tamanho efetivo das populações; e analisar a estrutura genética espacial das populações.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fragmentação de biomas tropicais

A expansão urbana e agrícola, bem como as atividades decorrentes do processo de crescimento populacional, têm produzido resultados cada vez mais danosos aos ecossistemas tropicais, gerando principalmente degradação, fragmentação e perda de biodiversidade.

A fragmentação do habitat introduz uma quebra na continuidade da distribuição da vegetação original, reduz o habitat disponível às plantas e animais silvestres e acrescenta bordas a uma paisagem até então contínua. Desta forma, este processo, que atua reduzindo a cobertura vegetal original dos biomas, pode influenciar os padrões locais e regionais de biodiversidade por causa da perda de micro-habitats únicos, da insularização do habitat, bem como das mudanças relacionadas a padrões ecológicos de dispersão e migração (Soulé e Kohm, 1989).

Num período de 100 a 200 anos, a fragmentação de habitats, resultado de ações antrópicas, tem afetado muitos ecossistemas, como, por exemplo, as florestas. O desmatamento de grandes áreas florestais para ocupações agrícolas acarretou um outro modelo de paisagem composta de pequenas ilhas de floresta com certo grau de isolamento e formadas por pequenas populações (Young et al., 1996).

Segundo Young & Boyle (2000), os efeitos da fragmentação florestal são perda de diversidade genética em populações e espécies, mudança na estrutura intrapopulacional e aumento da endogamia.

Várias regiões de floresta tropical no mundo fatalmente estarão sujeitas ao processo de desenvolvimento nas próximas décadas, deixando um mosaico de

fragmentos florestais cujas áreas variarão em diversas ordens de magnitude (Bierrgaard et al., 1992).

Diante desta realidade, a compreensão dos padrões e processos ecológicos ocorrendo nos fragmentos florestais é crucial para o manejo e conservação da biodiversidade neles contida. Tornam-se, portanto, necessários estudos de estrutura genética de populações em espécies de ambientes fragmentados, para que sejam estabelecidas populações-base para a conservação genética *in situ* e *ex situ*.

2.2 O cerrado e a perda de biodiversidade

O cerrado constitui uma grande fonte de recursos de fauna e de flora, ocupando aproximadamente 22% do território nacional, dos quais 90% estão situados nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Bahia (Fonseca & Muniz, 1992), sendo que, em Minas Gerais, 53% de sua cobertura vegetal é representada por este bioma (Costa Neto, 1990).

Os estudos sobre a vegetação do cerrado identificam uma grande variação na composição de locais em relação ao número e composição das espécies. Dependendo das características de solo, altitude, declividade e ocorrência de fogo, aparecem 11 tipos de formações fisionômicas: 4 formações florestais influenciadas pelo fogo (mata ciliar, mata de galeria, mata seca e cerradão) e 7 formações não florestais que também sofrem influência do fogo: cerrado *sensu stricto*, parque de cerrado, palmeiral e vereda (formações savânicas) e campo sujo, campo rupestre e campo limpo, que são formações campestres (Eiten, 1993).

Estima-se atualmente a existência de 6000 espécies de plantas no cerrado: destas, 40% consistem de espécies lenhosas (WWF - Brasil, 2000). A flora peculiar deste bioma é formada por cerca de 42% de espécies nativas. 58%

de espécies acessórias (oriundas de outras formações vegetais) e 11% de repetições (espécies que ocorrem em mais de um tipo de formação), segundo Rizzini (1971). A heterogeneidade do cerrado também se manifesta na altimetria. Predominam as áreas de maior altitude na área central e sudeste, situando-se ao norte as áreas mais baixas; 22% da superfície está abaixo de 300 metros, 73% entre 300 e 900 metros e 5% acima de 900 metros (Adamoli et al., 1986).

Entretanto, o cerrado é provavelmente o bioma brasileiro que está sendo mais rapidamente convertido em área antrópica (Berg, 2000). Montovani & Pereira (1998) mostram que os dados da perturbação no cerrado são alarmantes, pois apenas 20% do bioma cerrado ainda possui uma vegetação nativa em estado relativamente intacto. Assim, os poucos blocos de vegetação nativa ainda inalterados devem ser considerados como prioridade para a implementação de áreas de conservação, uma vez que apenas 0,85% do cerrado encontra-se oficialmente em unidades de conservação (WWF - Brasil, 2000).

Os principais tipos de pressão sobre a fauna e flora do cerrado referem-se à conversão de áreas naturais em agroecossistemas, ampliação da área de influência urbana, a erosão e o assoreamento de cursos d'água, além da construção de hidrelétricas e mineração (Marinho-Filho, 1998).

No norte de Minas Gerais, a produção de carvão vegetal a partir da exploração de áreas de cerrado nativo, e também dos reflorestamentos de eucalipto, levou a uma redução significativa na cobertura vegetal da região e, com ela, a redução da biodiversidade regional (Silva, 1999). Este autor cita trabalho do Grupo de Estudos Ambientais (GEA), mostrando que a cobertura vegetal da região reduziu de 85% para 35% entre 1970 e 1990. Silva (1999) demonstra também, através dos dados de imagens de satélite de 1990 a 1992 do Instituto Estadual de Florestas - IEF, que o total remanescente do bioma cerrado

é de 34,10% da cobertura original, o que representa 4,0 milhões de hectares, estando incluídas neste total as áreas em regeneração.

Essas formas de ocupação e exploração predatória, que não levam em conta as peculiaridades e fragilidades do cerrado, não deixam sequer reservas de amostras dos ecossistemas naturais que possam funcionar como banco genético e refúgio de fauna e flora. Até mesmo as veredas e matas ciliares vêm sendo objeto de severas agressões (Pinto, 1993a, citado por Silva, 1999).

A redução da biodiversidade pode causar enormes danos às espécies de plantas, uma vez que, reduzidas suas áreas de ocorrência, começam a sofrer as conseqüências da deriva genética, podendo, assim, entrar em processo de extinção. Além disso, a redução da diversidade biológica, ocasionada pela perda de habitat natural de espécies vegetais e animais, põe em risco a sobrevivência destas e leva, conseqüentemente, à destruição do germoplasma, cujo valor econômico é incalculável (Cunha et al., 1994).

2.3 A espécie *Caryocar brasiliense* Camb.

O pequi, como é mais conhecido, é uma frutífera de grande importância para as regiões de cerrado (Figura 1). Pertence ao gênero *Caryocar*, da família Caryocaraceae (Barradas, 1972). Esta família exclusivamente neotropical possui 23 espécies em dois gêneros, *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G. Mey. A família se estende da Costa Rica ao sul do Brasil e Paraguai, e a maioria das espécies é importante por sua madeira, frutos e sementes (Barradas, 1972; Prance & Silva, 1973). O gênero *Caryocar* apresenta um total de dezenove espécies, das quais oito ocorrem no Brasil (Barradas, 1972). Nos cerrados encontram-se *Caryocar brasiliense* Camb. e *Caryocar coriaceum* Wittm. (Rizzini, 1971).

A espécie *Caryocar brasiliense* Camb. está dividida em duas subespécies: subespécie *brasiliense*, que se caracteriza por apresentar os

pedúnculos, pedicelos e folíolos densamente velutinos ou hirsutos, e por seus indivíduos apresentarem porte arbóreo; e subespécie *intermedium*, que apresenta as estruturas glabras, além de seus indivíduos serem subarbustos ou arbustos (Prance & Silva, 1973).

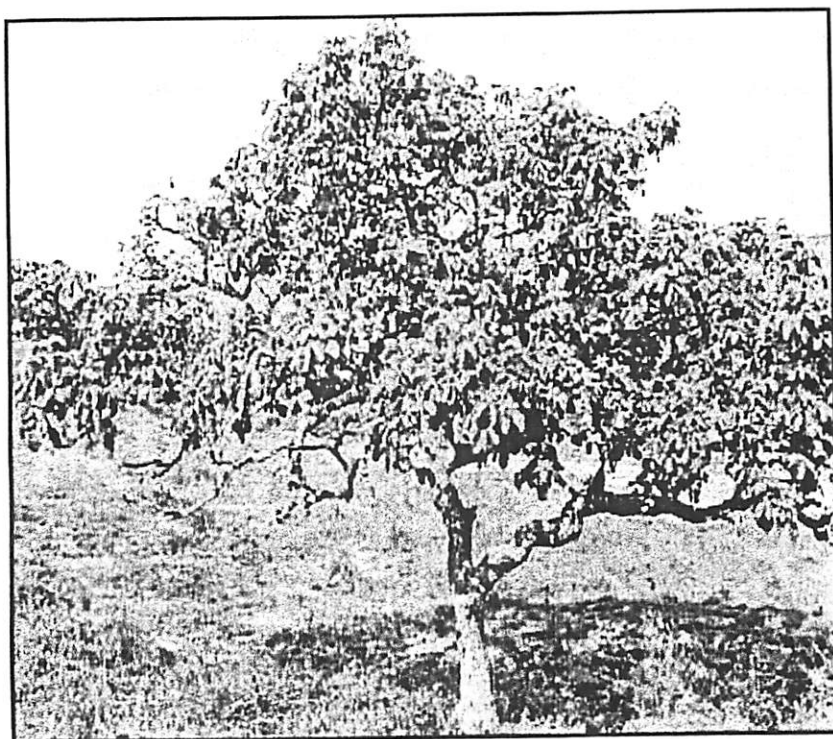


FIGURA 1 - Pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.).

O *C. brasiliense* Camb. é conhecido popularmente por diversos nomes: “Piqui”, “Pequi”, “Piqui-do-cerrado”, “Almendro”, “Barbasco”, “Jiquiá”, “Pequizeiro”, “Piquirana”. A árvore do pequi é frondosa, esgallhada, de altura variável, podendo ultrapassar 10m. A casca é espessa, com fendas de cor escura amarela ou pardo-claro-amarelo, bastante pesada e resistente a agentes de deterioração (Rizzini, 1971; Ferreira, 1980; Braga, 1976).

Caryocar brasiliense Camb. apresenta folhas opostas, trifolioladas, inflorescência do tipo ráculo terminal, com 10 a 30 flores, com 5 sépalas avermelhadas e arredondadas, corola alva, 5 pétalas e mais de 200 estames; o ovário é súpero e globoso. O número de carpelos varia de quatro a seis, ocorrendo um único óvulo por lóculo (Barradas, 1972). A semente adulta é composta por endocarpo rígido e espinhoso, constituído de putâmen, que nos frutos maduros retém a parte interna do mesocarpo; no aspecto morfológico a semente é constituída de embrião, tegumento e vestígios de endosperma (Barradas, 1973).

O pequizeiro é uma planta comum nos cerrados brasileiros (Araújo, 1994), ocorrendo no cerradão distrófico e mesotrófico, cerrado denso, cerrado *sensu stricto* e cerrado ralo. Distribui-se por Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins (Almeida & Silva, 1994).

Os eventos fenológicos do pequizeiro ocorrem em épocas diferentes, de acordo com o local de ocorrência. Em Cajuru - SP, ocorre floração nos meses de outubro a dezembro e frutificação de janeiro a março, dezembro e abril (Barradas, 1972). Dutra (1987), em estudo fenológico no cerrado de Brasília - DF, relatou forte deciduidade de *C. brasiliense* e verificou também floração, frutificação e liberação de sementes na estação chuvosa. Em estudo feito por Araújo (1994), no norte de Minas Gerais, o período de floração ocorreu antes do início da estação chuvosa, sendo que o desenvolvimento e maturação dos frutos terminaram antes do período das chuvas; neste trabalho, observou-se também a ocorrência de eventual produção temporã. Segundo Rizini (1971), a deciduidade foliar representaria uma adaptação contra a perda de água e sobrevivência da espécie por um período desfavorável, havendo translocação de nutrientes das folhas.

Em trabalho realizado no sul de Minas, Vilela (1998) concluiu que a floração e frutificação ocorreram durante a estação chuvosa, ainda que a produção pareça ser bianual, sendo mais acentuada em um ano do que no ano seguinte, e sendo fevereiro e março período ideal para coleta.

As flores são tipicamente quiropterófilas, apresentando modelo morfológico do tipo “pincel” de estames. A planta apresenta auto-incompatibilidade incompleta, sendo a proporção de frutos formados por polinização cruzada significativamente maior do que a formada por autopolinização. Pelo menos 5 espécies de morcego já foram observadas como polinizadores potenciais (Gribel & Hay, 1993). Além disso, as flores servem de alimento para diversos animais do cerrado, como a paca e o veado campeiro e mateiro, o que faz dos locais de queda das flores ponto de espera de caçadores (Ribeiro, 2000).

O pequizeiro é uma planta com dispersão tipicamente zoocórica. Entre os consumidores dos frutos, a ema (*Rhea americana*) é a espécie com maior potencial como agente dispersor, com capacidade de dispersar os diásporos por endozooecoria, seguida da gralha (*Cyanocorax cristatellus*) e da cotia (*Dasyprocta* sp.), as quais podem atuar como dispersoras de sementes a pequenas distâncias por sinzooecoria (Gribel, 1986).

Os frutos do *C. brasiliense* Camb. apresentam grande valor nutritivo, sendo considerado o fruto mais rico em vitamina A (Franco, 1982). Ainda segundo Almeida & Silva (1994), o pequi possui altos teores de gorduras, vitamina B12 e minerais. Além de os frutos serem utilizados na alimentação humana, dos mesmos são extraídos óleos que são utilizados como medicamento no tratamento das infecções bronco-pulmonares ou fazendo parte de diversos preparos farmacêuticos (Peixoto, 1973; Braga, 1976).

O pequi exerce forte influência na renda das famílias dos agricultores sertanejos, além de fazer parte de sua própria alimentação. Os frutos vendidos

“in natura”, na beira de estradas, pelo trabalhador rural de Minas Gerais correspondem a 40,7% de sua renda anual, sendo que, quando o mesmo produz o óleo, a sua renda se eleva para 54,7%. Além de elevar a renda, a produção de óleo também garante o aproveitamento do fruto “in natura” não vendido e ainda contribui para que os preços não sejam reduzidos no pico da safra (Chevéz Pozo, 1997).

Além disso, desta espécie pode-se obter diversos produtos, o que tem estimulado o seu estudo como cultura comercial (Dombroski, 1997). Sua madeira é usada para esteios de curral e mourões (Heringuer, 1970), para produção de carvão siderúrgico (Laborial, 1966) e construções civis (Barradas, 1972). A casca e as folhas contêm altos teores de taninos, constituindo-se em matéria-prima para a fabricação de tinturas (Lisboa; 1930; Barradas, 1973). O pequizeiro pode ser explorado com diversas finalidades, o que tem levado vários autores a referendá-lo como uma frutífera com grande potencial econômico nas regiões de cerrado, principalmente naquelas consideradas mais carentes, onde o extrativismo de seus frutos é importante fonte de renda para famílias de agricultores (Ribeiro et al., 1986; Almeida & Silva, 1994; Chévez Pozo, 1997).

A árvore é protegida por lei (Portaria Nº 54, de 05/03/87 - IBDF - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal), o que impede seu corte e comercialização em todo o território Nacional. No entanto, a expansão das fronteiras agrícolas, a exploração florestal dos cerrados para a produção de carvão siderúrgico, bem como a formação de grandes reflorestamentos com monocultura de eucalipto, têm colocado em risco a preservação e variabilidade genética do pequizeiro (Sena, 1985; Araújo, 1994; Vilela, 1998). Além disso, o extrativismo intensivo desta espécie pode gerar perdas de material genético, já que grandes quantidades de frutos são coletadas e consumidas ou comercializadas, o que impede a reprodução natural.

Outro fator preocupante para a conservação e preservação de sua variabilidade genética é a baixa ocorrência de plantas jovens no campo. Segundo Brasil (1985), a baixa ocorrência de plantas jovens pode ser devida à dormência de suas sementes, à deterioração por ataque de insetos ou microorganismos, ou ainda à falta de água nos primeiros estágios de desenvolvimento da plântula.

Com relação a esse problema, ocorrem também na espécie baixos índices de propagação, o que, no caso desta espécie, ainda não está elucidado pela pesquisa, apresentando alguns entraves (Miranda et al., 1987) tanto por via sexual, devido à forte dormência de suas sementes (Araújo, 1994; Miranda et al., 1987), quanto por via assexuada ou vegetativa (Miranda, 1986).

Tendo em vista estes entraves à propagação, fica comprometido o estabelecimento de estratégias de conservação *ex situ* com a manutenção de bancos de germoplasma, e também o aproveitamento dos recursos naturais existentes no cerrado, impedindo a implantação de culturas exóticas neste bioma, além de contribuir para a preservação do pequi, evitando a erosão genética.

2.4 Marcadores genéticos isoenzimáticos

Marcadores genéticos são características qualitativas com herança mendeliana simples, facilmente reconhecidas cuja expressão não é influenciada pelo ambiente. Os marcadores genéticos bioquímicos são produtos da expressão de genes (proteínas ou compostos secundários como os terpenóides), enquanto os marcadores genéticos de DNA derivam do polimorfismo presente no próprio DNA (Robinson, 1998).

As isoenzimas, por sua vez, são proteínas que refletem as alterações na seqüência de DNA através de modificações na composição de aminoácidos. A alteração da carga ou, menos freqüentemente, da conformação da enzima,

produz uma modificação na mobilidade eletroforética. Desta forma, para a eletroforese empregam-se extratos protéicos obtidos por maceração do tecido vegetal em soluções extratoras apropriadas. O extrato é aplicado no gel e submetido a eletroforese. A seguir os géis são removidos das placas (gel de poliacrilamida) ou fatiados, no caso de gel de amido, e então revelados. Para enzimas, os géis são incubados em soluções contendo os componentes (substrato, coenzimas, solução-tampão e sais) necessários para a revelação das bandas de atividade enzimática (Weeden & Wendel, 1990; Alfenas et al., 1998).

O princípio básico da eletroforese é a migração diferencial de moléculas com cargas diferentes, quando submetidas a um campo elétrico. As proteínas são compostas por um ou mais polipeptídeos, que são as cadeias de aminoácidos. A seqüência de aminoácidos em um polipeptídeo é determinada pela seqüência de nucleotídeos. Assim, pequenas mudanças na seqüência de DNA podem alterar a estrutura e, portanto, a mobilidade eletroforética de uma proteína (Solferini & Selivon, 2001).

A variabilidade isoenzimática foi inicialmente descrita por Hunter & Market (1957) e Market & Moller (1959). De acordo com a definição original destes autores, as isoenzimas são variantes de uma mesma enzima, tendo funções idênticas ou similares, e estão presentes no mesmo indivíduo. Quando controladas por um mesmo gene, essas enzimas são chamadas de aloenzimas (Alfenas et al., 1998).

A enzima ativa pode ser constituída por um ou mais polipeptídeos. Portanto, as proteínas estruturais e as enzimas podem ser monoméricas, diméricas, triméricas, tetraméricas, etc., quando constituídas por um, dois, três, quatro ou mais polipeptídeos, respectivamente. Cada polipeptídeo contribui com um monômero. Os monômeros que constituem uma proteína podem ser iguais ou estruturalmente diferentes, advindo daí os termos homodímero e heterodímero. Cada polipeptídeo tem uma forma (estrutura terciária)

característica. A junção de dois ou mais monômeros resulta na estrutura quaternária das proteínas (Alfenas et al., 1998).

Os marcadores isoenzimáticos geralmente fornecem ampla informação genética para diversas aplicações. Os dados obtidos com esses marcadores têm permitido, entre outras coisas, a quantificação de níveis de variabilidade genética, as estimativas de fluxo gênico, a elucidação dos limites interespecíficos e o estabelecimento de relações evolutivas entre os diferentes taxa (Solferini & Selivon, 2001).

A técnica de isoenzimas é relativamente barata e acessível. Embora em número limitado, vários locos isoenzimáticos podem ser analisados rápida e simultaneamente. Mesmo com um número limitado de locos, e com a existência de marcadores mais potentes, hoje em dia as isoenzimas continuam sendo uma classe de marcadores muito útil para análises genéticas que não requeiram uma amostragem ampla do genoma (Ferreira & Gattapaglia, 1998).

Os alelos isoenzimáticos são codominantes, isto é, genótipos de um determinado loco são facilmente identificados. Isto permite estimar diretamente parâmetros tais como frequências alélicas, frequências genótípicas e, a partir destes, coeficientes de diversidade gênica e heterozigozidade (Ferreira & Gattapaglia, 1998), além de outras análises, como, por exemplo, inferências quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg.

O método de análise isoenzimática tem sido, nos últimos vinte anos, a ferramenta mais utilizada para a análise de estrutura genética de populações naturais, tendo sido empregado para o estudo de mais de 700 espécies de plantas (Hamrick & Godt, 1990; Oliveira, 2000; Sebbenn, 2001; Póvoa, 2002). Seu uso é amplo por sua relativa eficiência e custo, particularmente em estudos de variabilidade intraespecífica de plantas (Kephart, 1990).

2.5 Variabilidade genética

Um dos principais objetivos da genética de populações é descrever a variação genética em populações e estudar seus mecanismos de manutenção (Nei, 1987). Esta variação fornece matéria-prima para mudanças evolucionárias futuras, e níveis diferentes de variação em diferentes populações podem fornecer evidência de eventos evolucionários no passado (Weir, 1990). Dessa forma, o conhecimento dos níveis de distribuição da variação genética dentro e entre populações torna-se um pré-requisito para o estabelecimento de práticas conservacionistas efetivas e eficientes (Frankel, 1983).

Moran & Hopper (1987) destacam que, na conservação de uma espécie, é fundamental a manutenção da máxima quantidade de seus recursos genéticos. Esses recursos incluem a variação herdável que ocorre dentre os indivíduos de uma espécie.

O estudo da variação genética em populações naturais de uma espécie envolve duas questões: a primeira é a de descrever os níveis de variação genética mantidos na população por meio de marcadores genéticos; e a segunda a de quantificar a variação genética dentro das populações a partir de ensaios de campo - testes de progênies (Sebbenn, 2001).

As medidas mais simples de variação são as contagens de genótipos; a partir destes obtêm-se outros parâmetros de simples estimativas, como o número de alelos por loco (A) e as frequências alélicas. Para analisar a variação interpopulacional são necessárias funções mais complexas, tais como a diversidade gênica (Weir, 1990).

Outros parâmetros têm sido utilizados para caracterizar a variação em nível intrapopulacional, como é o caso da porcentagem de locos polimórficos, o número de alelos por loco, a heterozigiosidade e a diversidade gênica (Torggler et al., 1995; Alfenas et al., 1998).

A utilização de ferramentas genéticas como marcadores isoenzimáticos, bem como o uso de marcadores mais potentes, têm sido feitos para a medição da variabilidade genética de populações naturais. Estas ferramentas fornecem dados genotípicos que contribuem na determinação dos diversos parâmetros a serem avaliados para a quantificação da variação genética nas populações. Tendo em mãos os dados de variação, pode-se então aplicá-los na conservação, manejo e melhoramento das espécies nativas.

2.6 Estrutura genética

Uma população pode ser definida sinteticamente como um grupo de indivíduos normalmente pertencentes a uma mesma espécie, que ocupam uma determinada área e interagem entre si, frequentemente trocando alelos (Berg, 2000).

Sob um ponto de vista genético (população mendeliana), a população é um grupo de indivíduos da mesma espécie que interage reprodutivamente, ou seja, tem possibilidade real e potencial de troca de alelos. Vista num contexto ecológico, é um grupo de indivíduos da mesma espécie que interage ecologicamente, normalmente ocupando um mesmo habitat, principalmente por competição (Snaydon, 1987).

Segundo Ricklefs (1996), a população tem continuidade temporal porque indivíduos que estão vivos num determinado tempo são descendentes de outros que estavam vivos num tempo anterior. A população também tem continuidade espacial devido a os indivíduos, em diferentes partes da distribuição, terem ancestrais comuns: em geral, quanto mais distantes estiverem dois indivíduos, mais remoto no tempo encontra-se seu ancestral comum. Como resultado, os indivíduos dentro de uma população herdaram seus alelos de um depósito comum e, assim, compartilham sua história comum de adaptação.

Alfenas et al. (1998) salienta que populações naturais são a fonte de germoplasma para os programas de melhoramento genético. São também as unidades sobre as quais incide o manejo para a produção ou conservação dos recursos naturais. Para as mais diversas aplicações práticas, o interesse em marcadores se concentra em quantificar a variabilidade genética, descrever como esta se distribui entre e dentro de populações e como estas podem ser manipuladas.

A estrutura genética é o resultado da ação conjunta de mutação, migração, seleção e deriva, as quais, por sua vez, devem operar dentro do contexto histórico e biológico de cada espécie de planta. Essa estrutura pode se manifestar entre populações geograficamente distintas, dentro de um grupo local de plantas, ou mesmo nos indivíduos de uma progênie (Moraes, 1997).

Brown (1978) define estrutura genética populacional como a medida dos padrões de variação de uma espécie, dada pela diversidade genética da população, a variação nos níveis de diversidade em diferentes populações e a extensão, variação e correlação ou distância genética entre populações. Alguns autores afirmam ainda que a estrutura genética pode estar associada à distribuição espacial ou temporal dos genótipos (Brown, 1978; Loveless & Hamrick, 1984; Hamrick, 1989).

O desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética ocorrem devido às interações de um complexo conjunto de fatores evolucionários, como variação no conjunto gênico e organização dessa variação dentro de genótipos; distribuição espacial dos genótipos; sistema reprodutivo que controla a união dos gametas para a formação das progênies; eventos casuais e processos de crescimento, mortalidade e reposição dos indivíduos que darão origem às populações futuras (Clegg et al., 1978).

Vários são os fatores ecológicos e da história vital que afetam a estrutura genética, tais como: sistema reprodutivo, morfologia floral, modo de

reprodução, mecanismos de polinização, dispersão de sementes, dormência de sementes, fenologia, ciclo de vida, ritmo de reprodução, estágio sucessional, amplitude geográfica, tamanho populacional, densidade populacional e distribuição espacial da população (Moraes, 1997).

Os métodos estatísticos geralmente empregados para caracterizar a estrutura genética populacional, a partir de isoenzimas, são a análise de variância de frequências gênicas (Cockerham, 1969, Vencovsky, 1992; Weir, 1996), a diversidade genética de Nei (Nei, 1973) e as estatísticas de F de Wrigth (1965).

A análise de frequências gênicas (Cockerham, 1969) foi desenvolvida e fundamentada na pressuposição de que as populações em estudo são oriundas de uma mesma população ancestral, permitindo, assim, a estimação de coeficientes de parentesco (coancestralidade) e endogamia.

A diversidade genética de Nei fornece, a partir de uma metodologia estatística simples, a proporção de variabilidade genética contida dentro e entre as populações e os níveis de heterozigosidade esperados para o total e média das populações. Essa metodologia foi desenvolvida por Nei (1973) com o intuito de obter uma medida da estrutura de populações que acomodasse locos multialélicos; assim, foi considerada uma versão multialélica das estatísticas F (Nei, 1973; 1977; Berg & Hamrick, 1997).

As estatísticas F fornecem índices de fixação de alelos para o total das populações, média dentro das populações, com base em medidas de probabilidade de identidade por descendência. Considerando uma espécie subdividida em várias populações, as estatísticas F fornecem os níveis médios de fixação de alelos dentro da população (F_{IS}), a divergência genética entre populações (F_{ST}) e os níveis de fixação de alelos para o total das populações (F_{IT}) (Wright, 1951; Nei, 1977). Estas estatísticas inferem também sobre a aderência das populações ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), tendo em vista os valores de F . Se F for igual zero, indica que os genótipos da população

estão condizentes com o EHW; e valores menores do que zero indicam excesso de heterozigotos.

A caracterização dos níveis de variabilidade e estruturação genética, bem como o entendimento da dinâmica de movimentação dos alelos nas populações naturais das espécies, podem contribuir para o conhecimento das mesmas, e ao mesmo tempo podem fornecer subsídios para a aplicação de estratégias de conservação e o estabelecimento de planos de manejo que visem o uso sustentado da biodiversidade nativa de um ecossistema.

2.7 Fluxo gênico

A movimentação de alelos de uma população para a outra tem sido caracterizada pelo fluxo gênico (Slatkin, 1985). Em plantas, o fluxo gênico ocorre através do movimento dos grãos de pólen e, ou, sementes. Quando realizado via pólen, o fluxo gênico depende do movimento do grão até o estigma receptivo (fluxo gênico potencial) e de eventos pós-polinização que afetam a fertilização (Levin & Kerster, 1974).

Segundo Futuyma (1992), existem diversos modelos de fluxo gênico que correspondem às diferenças na estrutura da população, dentre os quais se incluem:

- O modelo “continente-ilha”, no qual efetivamente existe um movimento unidirecional de uma população grande, “continental”, para uma menor isolada:
- O modelo de “ilha”, no qual a migração ocorre ao acaso entre um grupo de pequenas populações:
- O modelo de “alpondras” (“stepping-stone”), no qual cada população recebe migrantes de populações vizinhas:

- O modelo de “isolamento pela distância”, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre os vizinhos, em uma população de distribuição contínua.

Futuyma (1992) considera que o fluxo gênico ocorre em uma taxa aproximadamente constante em cada geração; porém, em qualquer modelo de estrutura populacional, o fluxo gênico tem o efeito de homogeneizar a composição genética; ou seja, se o único fator operante for o fluxo gênico, todas as populações irão convergir para a mesma frequência alélica (geralmente uma média das frequências gênicas iniciais).

No modelo de continente-ilha ocorre uma representação mais simples do processo de colonização, que se baseia no modelo de migração de Wright (1940) e assume a migração unidirecional de uma fonte relativamente grande, com uma frequência alélica fixada, para colônias pequenas isoladas ou ilhas. Pode ser aplicado para populações de plantas que envolvem dispersão a longa distância e é particularmente relevante para a distribuição de plantas colonizadoras (Barret e Husband, 1989).

No modelo de ilhas, ao contrário do modelo continente-ilha, a migração é multidirecional porque as subpopulações são assumidas por terem o mesmo tamanho efetivo. Nesse modelo, dois padrões são reconhecidos, o aleatório e o de alpondras, esse último estabelecendo que as migrações ocorrem somente entre subpopulações adjacentes, em uma ou duas dimensões. No modelo aleatório, o grau de similaridade nas frequências alélicas entre as subpopulações não é correlacionado com as distâncias que as separam (Moraes, 1997). No modelo de alpondras (Kimura & Weiss, 1964), há a predição de que quando a migração é restrita dessa forma, as populações divergirão e a correlação entre populações diminuirá com as distâncias que a separam (Barret & Husband, 1989).

As implicações evolutivas do fluxo gênico sobre coesão ou disrupção entre populações naturais de plantas e a estimação deste parâmetro podem ser obtidas através de métodos diretos ou indiretos (Slatkin, 1985). As medidas diretas são baseadas na distância de transporte dos grãos de pólen e semente, enquanto as medidas indiretas baseiam-se na relação inversa entre divergência entre populações e a taxa de migração (m), considerando o modelo de ilhas (Reis, 1996).

A percepção do fluxo gênico a partir da correlação entre divergência e migração permite quantificar o movimento de gametas e, ou, indivíduos por meio de parâmetros, que independem do tamanho da população (Giudice Neto, 1999). Para o modelo de ilhas, esse parâmetro pode ser o número de migrantes (Nm), que mede o número de gametas ou indivíduos que se movem ou (Nb) que representa o tamanho de vizinhança nos modelos contínuos (isolamento pela distância) (Slatkin & Barton, 1989), sendo que a relação entre Nm e Nb é: $Nb = 2\pi Nm$.

Quando m é menor que $1/2N$ há a tendência para a fixação por deriva de um ou outro alelo. Porém, quando a medida m é igual a $1/N$, e portanto Nm é igual a 1 por geração, não haverá diferenciação genética significativa entre populações (Wright, 1931), ou seja, os efeitos da migração são suficientes para contrapor-se aos efeitos da deriva (Reis, 1996).

2.8 Tamanho efetivo (N_e)

O tamanho efetivo da população (N_e) representa o tamanho de uma população, ou vizinhança que sofre o mesmo declínio de variância genética por endogamia ou deriva, em relação ao tamanho de uma população referencial idealizada, panmítica, de tamanho N (Crow e Kimura, 1970; Lande, 1988). O conceito e a teoria matemática do tamanho efetivo foram desenvolvidos por

Wright (1931) e Fisher (1941), a partir de estudos do efeito de deriva genética ao acaso sobre as frequências de genes atribuídos a pequenas populações.

O tamanho efetivo é então tomado como medida de representatividade genética da amostra de indivíduos e é um importante parâmetro em genética quantitativa e de populações porque as taxas de deriva genética e de endogamia são mensuradas (Vencovsky, 1987). Este parâmetro depende principalmente dos níveis de endogamia e parentesco existentes na amostra, sendo que quanto maiores estes níveis, menor será a representatividade genética da amostra (Vencovsky, 1987).

O tamanho efetivo pode ser estimado para várias situações, como por exemplo, uma população de plantas adultas, uma população estruturada em progênies, várias populações, populações em várias regiões, acessos de um banco de germoplasma, etc. Um fator importante na estimativação de N_e é que a população de referência esteja bem definida (Sebbenn, 2001).

O tamanho efetivo de população influencia diretamente na manutenção da estrutura genética de uma população ao longo das gerações. Neste sentido, o N_e é de grande importância para delimitar a área mínima viável para conservação *in situ* de uma espécie (Sebben, 1997). Além disso, o conhecimento do N_e pode contemplar também os planos de conservação *ex situ*, pois a coleta de sementes para coleções de germoplasma pode ser feita de maneira a se capturar o máximo de representatividade genética, ou seja, o máximo N_e , e a partir deste parâmetro propiciar a manutenção das populações por longo tempo nos bancos de germoplasma.

2.9 Autocorrelação espacial

Os processos biológicos populacionais, tais como seleção, dispersão, migração e deriva genética, ocorrem simultaneamente em um contexto espacial

(Sokal & Wartenberg, 1981). Assim, mesmo em grandes populações verifica-se a formação de padrões espaciais contínuos nas variáveis que respondem a esses processos: tais padrões, associados ao componente histórico de diferenciação das linhagens no tempo e aos padrões de interação entre os indivíduos, também tendem a produzir pequenas populações locais (demes) parcialmente isoladas e que se diferenciam geneticamente com o passar do tempo (Diniz Filho, 1998).

Dessa forma, a autocorrelação espacial pode ser 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 estrutura da distribuição espacial dos genótipos em populações é parte integrante dos processos genéticos populacionais.

Nas populações naturais de plantas, a distribuição da variabilidade genética pode influenciar processos evolutivos e ecológicos, formando uma parte integral do conceito de vizinhança, bem como das teorias de especiação alopátrica e parapátrica. Dessa forma, a estrutura espacial da variação genética dentro das populações tem conseqüências genéticas e ecológicas pelo fato de resultar em agregados de genótipos particulares (Shapcott, 1995).

Dessa forma, o arranjo espacial das plantas é de vital importância na determinação de sua adaptação, sendo que as interações entre as mesmas são mais locais do que as encontradas em animais. As propriedades emergentes das comunidades de plantas (por exemplo: diversidade, biomassa, duração, produtividade, entre outros) resultam das interações dos indivíduos com o seu meio ambiente e de um círculo muito limitado de vizinhos coespecíficos ou de espécies diferentes. Assim, plantas diferentes terão padrões demográficos que, por sua vez, estão correlacionados a diferentes padrões de desenvolvimento (Crawley, 1986).

Os modelos para análise de autocorrelação espacial foram desenvolvidos principalmente por geógrafos ingleses, no início dos anos 70, e aplicados à biologia de populações por Jumars et al. (1977). Esses modelos têm sido frequentemente aplicados em estudos de diferenciação entre populações locais, com base em dados de frequência de alelos em sistemas de isoenzimas, morfometria e citogenética (Diniz-Filho, 1998).

Inúmeros métodos têm sido desenvolvidos e utilizados para detecção de estrutura espacial dentro de populações, dentre os quais muitos envolvem dados de isoenzimas. Alguns autores têm se utilizado da estatística F_{ST} (Wright, 1965) e G_{ST} (Nei, 1973; 1987). Contudo, Dewey & Heywood (1988) chamam a atenção para as desvantagens na caracterização da estruturação em uma escala menor que as dimensões das subpopulações e, em adição, para o fato de que, se o verdadeiro limite da subpopulação está contido dentro das subpopulações experimentais, a variância na frequência gênica na escala espacial escolhida poderá ser subestimada.

Em estudos de genética populacional e variação geográfica, utilizando frequências alélicas ou caracteres quantitativos das populações locais, a autocorrelação espacial é usualmente mensurada através do índice I de Moran (Diniz Filho, 1998). Este índice varia de -1 a +1, tendo esperança matemática próxima a zero para tamanhos amostrais grandes, na ausência de autocorrelação (Sokal & Oden, 1978).

Para obter o coeficiente de autocorrelação espacial de uma variável, deve-se correlacionar os valores daquela variável a pares de pontos em um plano; contudo, nem todos os pares de pontos serão relacionados, mas apenas aqueles considerados vizinhos (Sokal & Oden, 1978). No caso de se obterem frequências alélicas através de estatísticas espaciais, exige-se que estas sejam associadas a cada uma das populações locais coordenadas espaciais ou geográficas - latitude e longitude, por exemplo (Diniz Filho, 1998). Este autor

ênfatiza ainda que a variação existente pode ser representada em um espaço tridimensional, no qual os eixos x e y representam coordenadas espaciais e o eixo z, as freq ncias alélicas.

Para se fazer a conexão dos pares de localidades amostrais vizinhas, freqüentemente são usados os métodos do algoritmo do vizinho mais próximo e a conexão de Gabriel (Sokal & Oden, 1978; Dewey & Heywood, 1988; Hewood, 1991). No método do vizinho mais próximo, ocorre a ligação de cada indivíduo apenas com o mais próximo, atribuindo pesos binários, geralmente $w=1$, para pares conectados, e $w = 0$ para todos outros pares de localidades possíveis (Dewey & Heywood, 1988; Hewood, 1991). Na conexão de Gabriel, dois indivíduos A e B são considerados conectados se nenhum outro indivíduo ocorrer sobre ou dentro de um círculo cujo o diâmetro é o segmento de reta AB (Sokal & Oden, 1978).

Os modelos de autocorrela o espacial são uma ferramenta poderosa para detectar padrões de variação e, em muitos casos, para fazer inferências sobre os processos envolvidos na diferenciação de populações locais. Estes modelos, portanto, devem merecer destaque nos estudos futuros em diversas áreas da Genética, Ecologia e Evolução (Diniz Filho, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de estudo

O material genético deste estudo consistiu de quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. localizadas na região dos cerrados no norte do estado de Minas Gerais (Figura 2). Todas as populações apresentam um distanciamento entre si que varia de 35 a 100 km.

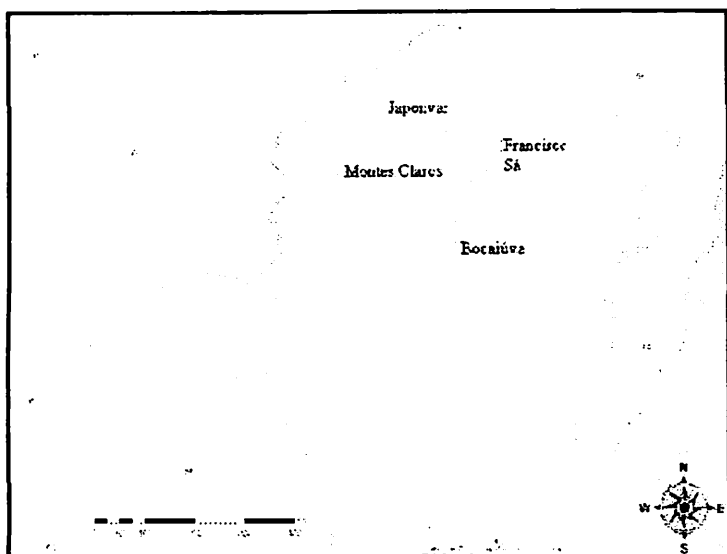


FIGURA 2 - Localização dos municípios em que se encontram as quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb.

O primeiro local de estudo corresponde a uma área de cerrado no município de Japonvar, localizado nas coordenadas $15^{\circ}29'S$ e $44^{\circ}22'W$ (Figura 3a), com altitude média de 580 m. O tipo climático é o tropical chuvoso (Aw) na classificação de Köppen, com temperatura média anual de $25^{\circ}C$.

O segundo local localiza-se no município de Montes Claros nas coordenadas 16°43'S e 43°52'W (Figura 3b), com altitude média de 638 m. O tipo climático segundo a classificação de Köppen é o tropical chuvoso (Aw), com temperatura média anual de 24,1°C.

O terceiro local de estudo está inserido no município de Francisco Sá, nas coordenadas geográficas 16°34'S e 42°53'W (Figura 3c), com altitude média de 950 m. O tipo climático desta área é o clima temperado suave (mesotérmico) chuvoso (Cwa), com temperatura média anual de 22°C.

O quarto local de estudo está localizado no município de Bocaiúva, nas coordenadas 17°07'S e 43°48'W (Figura 3d), com altitude média de 700 m. O tipo climático segundo a classificação de Köppen é o tropical chuvoso (Aw), com temperatura média anual de 24,8°C.

As populações dos municípios de Japonvar, Montes Claros e Bocaiúva localizam-se, em parte, num cerrado *sensu stricto*, e outra parte em regiões de pastagem que são formadas por indivíduos remanescentes da vegetação nativa. Nestas três áreas ocorre intensa coleta de frutos por agricultores familiares destas regiões.

A população de Francisco Sá encontra-se numa área de cerrado menos antropizada, na região da Serra do Espinhaço. Esta população encontra-se mais preservada por se tratar de uma área de topografia acidentada, com menos aptidão para agropecuária. Em torno desta área há grandes cultivos de *Eucalyptus* e *Pinus*. Além disso, a ocorrência da espécie neste local se dá com menor densidade do que nos demais.



(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURA 3 - Imagem de satélite dos municípios onde estão localizadas as populações estudadas: Japonvar (a); Montes Claros (b); Francisco Sá (c); Bocaiúva (d).

3.2 Procedimentos de amostragem

Foram amostrados ao acaso 60 indivíduos adultos por população com uma distância mínima de 100 metros entre cada um. Coletaram-se amostras foliares das plantas para extração do material de estudo. No campo, as folhas foram colocadas em saco plástico, identificadas e acondicionadas em caixa térmica com gelo para transporte até o laboratório, onde foram preservadas em deep-freezer a - 80°C.

Todas as árvores foram identificadas no caule com número correspondente. Além disso, todos os indivíduos foram georeferenciados com aparelho de GPS, para posterior análise de autocorrelação espacial.

A coleta foi realizada no mês de outubro de 2001, e a extração ocorreu logo após o término da coleta, no Laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular do Departamento de Ciências Florestais da UFLA.

3.3 Procedimentos de extração e análise eletroforética

No procedimento de extração foram usados 200 mg de tecido do limbo foliar (folhas adultas), 05 mg de Polivinil-pirrolidona - PVP e 01 ml de solução tampão nº 1 de Alfenas et al. (1998), modificada pela ausência de 2-Mercaptoetanol. O material foliar foi macerado manualmente com uso de almofariz e pistilo previamente resfriados, sendo a extração feita a baixa temperatura, com a utilização de cubos de gelo em torno do almofariz.

Os extratos obtidos na maceração foram colocados em eppendorfs previamente identificados e levados para serem centrifugados a 12.000 rpm a 4°C por 10 minutos. Foram aplicados 35 µl de sobrenadante dos extratos obtidos na maceração com pipeta automática na canaleta do gel para proceder à corrida eletroforética.

A eletroforese de isoenzimas foi conduzida em cuba vertical, utilizando gel de poliacrilamida como suporte, sendo de 4% o gel de concentração e 7,5% o gel de separação. Na corrida eletroforética usou-se corrente de 10 mA, e o tempo total da corrida era de 3 horas e 30 minutos a 4°C.

Foram testados 21 sistemas enzimáticos (Tabela 1); dentre estes foram escolhidos os que apresentaram bandas polimórficas com possibilidade de interpretação.

TABELA 1 - Sistemas enzimáticos suas siglas e código da enzima.

Sistemas Enzimáticos	Siglas	EC
Álcool desidrogenase	ADH	1.1.1.1
Enzima málica	ME	1.1.1.40
Esterase (α e β)	EST	3.1.1.1
Fosfatase ácida	ACP	3.1.3.2
Fosfoglucomutase	PGM	5.4.2.2
Fosfogluco isomerase	PGI	5.3.1.9
Glucose desidrogenase	GDH	1.1.1.47
Glucose 6-fosfato desidrogenase	G6PDH	1.1.1.49
6-Fosfogluconato desidrogenase	PGDH	1.1.1.44
Glutamato oxalacetato transaminase	GOT	2.6.1.1
Isocitrato desidrogenase	IDH	1.1.1.42
Leucina aminopeptidase	LAP	3.4.11.1
Malato desidrogenase	MDH	1.1.1.37
Peroxidase	PO	1.11.1.7
Superóxido dismutase	SOD	1.15.1.1
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.1.1.25
Catalase	CAT	1.11.1.6
Fosfatase alcalina	AKP	3.1.3.1
β -galactose desidrogenase	GLDH	1.1.1.48
Sorbitol desidrogenase	SDH	1.1.1.14
Glutamato desidrogenase	GTDH	1.4.1.3

EC - "Enzyme Commission".

Após migrações das amostras no gel, foram feitas as revelações a partir da metodologia de Alfenas et al. (1998). Depois da revelação, os géis foram

lavados em água corrente para remoção do excesso de solução e fixados com solução de glicerol 10%. Para a documentação dos géis, estes foram colocados entre folhas de papel celofane mediante o uso do conjunto Gel Dryer (modelo 583) e Vacunn Pump da BioRad.

3.4 Interpretação dos zimogramas

A interpretação dos zimogramas era feita no mesmo dia da corrida, logo após a lavagem, momento em que as bandas eram mais nítidas. As zonas codificadoras dos locos eram identificadas a partir da região mais catódica para a mais anódica. Assim, as zonas codificadoras que migravam mais eram identificadas como 1, as de migração inferior a 1 eram denominadas como 2 e assim por diante. Este procedimento era feito tanto para os locos quanto para os alelos.

Este procedimento de interpretação dos géis, que origina os zimogramas, denominado genotipagem, foi feito em todos os indivíduos de todas as populações. Os dados gerados a partir desta genotipagem é que deram subsídios para as análises dos parâmetros que foram estimados no presente trabalho.

3.5 Análises estatísticas

3.5.1 Caracterização da variabilidade genética

A interpretação dos zimogramas permite a determinação dos genótipos de cada indivíduo, possibilitando estimar vários parâmetros que caracterizam a variabilidade genética entre e dentro populações, ou seja, a sua estrutura genética.

Em cada uma das quatro populações, a variabilidade genética foi caracterizada a partir das estimativas de freqüências alélicas e dos índices de diversidade (heterozigosidade observada, porcentagem de locos polimórficos e número médio de alelos por loco). Para estas estimativas foi empregado o programa BYOSIS-1 (Swofford & Selander, 1989), que fornece ainda índices de fixação de Wright em nível de loco, média entre locos e média entre as populações.

3.5.1.1 Estimação das freqüências alélicas

A partir da interpretação dos zimogramas e da conseqüente definição dos genótipos de cada indivíduo estudado, para os marcadores empregados, foram estabelecidas as freqüências alélicas para cada população pré-definida. Assim, a estimação das freqüências alélicas em cada população é dada por:

$$\hat{p}_i = \frac{n_i}{n}$$

Em que:

- \hat{p}_i - Freqüência do alelo i ;
- n_i - Número de ocorrência do alelo i ;
- n - Número total de alelos amostrados.

3.5.1.2 Estimação dos índices de diversidade

A partir das freqüências alélicas foram obtidos os seguintes índices de diversidade genética: número médio de alelos por loco (A) e porcentagem de locos polimórficos (P). Estas estimativas foram obtidas utilizando o programa

BIOSYS-1, desenvolvido por Swofford & Selander (1989), sendo calculadas como a seguir:

a) Heterozigosidade média observada (H_o)

Para se obter a heterozigosidade média observada, as proporções obtidas para cada loco foram somadas e divididas pelo número total de locos analisados.

$$H_o = 1 - \sum P_{ii}$$

Em que:

P_{ii} - freqüência dos genótipos homozigotos.

b) Heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e)

A heterozigosidade para cada loco, em uma dada população, foi obtida a partir das freqüências alélicas, segundo as freqüências genotípicas esperadas, conforme equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1987):

$$\hat{H}_e = \frac{2n(1 - \sum \hat{p}_i^2)}{2n - 1}$$

Em que:

n - número de indivíduos amostrados na população em questão.

A heterozigosidade média esperada foi obtida pela média aritmética entre todos os locos analisados.

c) Porcentagem de locos polimórficos (P)

Um loco é considerado polimórfico quando a freqüência de seu alelo mais comum não ultrapassar 0.95 e 0.99. Para determinar esta medida de

obtido pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos.

d) Número médio de alelos por loco em cada população (A)

O número médio de alelos por loco (A) em cada população é obtido pela divisão do número total de alelos pelo número de total de locos. O (A) fornece uma idéia da distribuição de alelos por loco nas diferentes populações analisadas.

3.5.2 Estrutura genética das populações

O estudo de estrutura genética entre e dentro de populações foi feito mediante três critérios: estatística F de Wright, coeficiente de coancestralidade de Cockerham, e decomposição da heterozigosidade total em componentes entre e dentro de populações.

Estes critérios são complementares no sentido do significado biológico das estimativas obtidas. Assim, as estatísticas F permitem não apenas caracterizar como está distribuída a variabilidade genética entre as populações (F_{ST}), mas também produzem informações sobre os níveis médios de endogamia na população (F_{IS}) e na espécie (F_{IT}). Os coeficientes de coancestralidade (θ) possibilitam a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de possibilitarem a obtenção de estimativas dos níveis de endogamia a partir de uma base não viesada.

3.5.2.1 Estatísticas F

As estatísticas F de Wright foram calculadas conforme Nei (1977):

$$\hat{F}_{IT} = 1 - \frac{\hat{H}_{ot}}{\hat{H}_{et}}$$

$$\hat{F}_{IS} = 1 - \frac{\hat{H}_{oi}}{\hat{H}_{ei}}$$

$$\hat{F}_{ST} = 1 - \frac{\hat{H}_{es}}{\hat{H}_{et}}$$

sendo \hat{F}_{IT} , \hat{F}_{IS} e \hat{F}_{ST} os estimadores de F_{IT} , F_{IS} e F_{ST} , e:

$$\hat{H}_{ot} = 1 - \frac{\sum \sum X_{il}}{ls}$$

$$\hat{H}_{es} = 1 - \frac{\sum_i \sum_l \sum_k X_{ilk}^2}{ls}$$

$$\hat{H}_{et} = 1 - \frac{\left(\frac{\sum_i \sum_l \sum_k X_{ilk}^2}{s} \right)^2}{l}$$

Em que:

- \hat{H}_{et} - Heterozigosidade esperada considerando todas as populações;
- \hat{H}_{ot} - Heterozigosidade observada total;
- \hat{H}_{es} - Heterozigosidade esperada média dentro das populações;
- X_{il} - Frequência de heterozigotos do loco l na população i;
- X_{ilk} - Frequência do alelo k no loco l na população i;

- s - Número de populações;
- l - Número de locos.

3.5.2.2 Coeficiente de coancestralidade

O coeficiente de coancestralidade permite a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de calcular as estimativas com correção do tamanho populacional finito. Os coeficientes de coancestralidade foram obtidos a partir da decomposição dos componentes de variação da análise de variância das freqüências alélicas individuais, de acordo com Cockerham (1969). A análise de variância foi realizada com a utilização do programa GDA (Lewis & Zaykin, 1999).

Cockerham (1969) interpreta os parâmetros F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} como correlações intraclasses, podendo ser estimados conforme uma análise de variância. Na notação deste autor, $F_{IS} = f$, $F_{IT} = F$ e $F_{ST} = \theta$. A análise de variância foi baseada no modelo hierárquico:

$$Y_{ijk} = \mu + p_k + a_{j(k)} + g_{i(jk)}$$

Em que:

- Y_{ijk} - freqüência (0 ou 1) do alelo i do indivíduo j da população k;
- μ - média geral;
- p_k - efeito da população k;
- $a_{j(k)}$ - efeito do indivíduo j dentro da população k;
- $g_{i(jk)}$ - efeito do alelo i dentro do indivíduo j dentro da população k.

Na Tabela 2 está esquematizada a análise de variância, bem como as esperanças dos quadrados médios. Segundo Weir (1996), os componentes da variância têm a seguinte interpretação:

$$\sigma_G^2 = p(1-p)(1-F)$$

$$\sigma_I^2 = (f - \theta)$$

$$\sigma_P^2 = \theta$$

sendo que:

$$n_c = \frac{1}{r-1} \left(\sum Ni - \frac{\sum N_i^2}{\sum Ni} \right)$$

TABELA 2 - Esquema da análise de variância das frequências alélicas, com as esperanças dos quadrados médios, E(QM)¹.

Causa da variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)
Entre populações	$r - 1$	QMP	$\sigma_G^2 + 2\sigma_I^2 + 2n_c\sigma_P^2$
Indivíduos dentro de populações	$\sum_{i=1}^r (N_i - 1)$	QMI	$\sigma_G^2 + 2\sigma_I^2$
Alelos dentro de indivíduos	$\sum_{i=1}^r N_i$	QMG	σ_G^2

¹ r = número de populações; N_i = número de indivíduos da população i .

Os estimadores abaixo são obtidos a partir da utilização do método dos momentos:

$$\hat{\sigma}_G^2 = QMG$$

$$\hat{\sigma}_I^2 = \frac{QMI - QMG}{2}$$

$$\hat{\sigma}_P^2 = \frac{QMP - QMI}{2n_c}$$

$$\hat{F} = \frac{\hat{\sigma}_P^2 + \hat{\sigma}_I^2}{\hat{\sigma}_P^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_G^2}$$

$$\hat{\theta} = \frac{\hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_P^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_G^2}$$

Dessa forma, o parâmetro f pode ser calculado, então, por:

$$\hat{f} = \frac{\hat{F} - \hat{\theta}_P}{1 - \hat{\theta}_P}$$

3.5.3 Aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

Com a finalidade de verificar se as frequências genotípicas observadas em cada loco polimórfico de cada população sofria desvios em relação às frequências esperadas pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg, aplicou-se um teste qui-quadrado utilizando-se o programa Biosys (Swofford & Selander, 1989).

Este programa executa três modos para o cálculo da significância dos desvios entre as frequências observadas e esperadas. O primeiro teste é o qui-quadrado (χ^2) não agrupado ou com classes genotípicas reais ou individualizadas: neste teste são individualizados todos os genótipos. O segundo teste é o qui-quadrado (χ^2) agrupado, no qual as classes são agrupadas segundo a frequência do alelo mais comum. Este teste agrupa então três classes, sendo a

primeira a do número de homozigotos para o alelo mais comum: a segunda a do número de heterozigotos entre o alelo mais comum e os raros e a terceira a do número de homozigotos raros e outros heterozigotos. O terceiro teste, executado pelo programa BIOSYS, é o teste de probabilidade exato de Fisher.

3.5.4 *Estimação de fluxo gênico (\hat{N}_m)*

As estimativas de fluxo gênico entre as populações foram obtidas a partir da relação entre a quantidade de migrantes (\hat{N}_m) e a divergência entre populações (\hat{F}_{ST}), de acordo com Crow & Aoki (1984):

$$\hat{N}_m = \frac{1}{4\alpha} \left(\frac{1}{\hat{F}_{ST}} - 1 \right)$$

sendo que:

$$\alpha = \left(\frac{n}{(n-1)} \right)^2$$

em que n é o número de populações.

De acordo com Cockerham & Weir (1993), o emprego de $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado do que o \hat{F}_{ST} . Estimou-se também o tamanho da vizinhança (\hat{N}_b), que corresponde ao número médio de indivíduos numa área vizinha, ou área que ocorre pammixia, para modelos contínuos, como o isolamento por distância, que é dado por:

$$\hat{N}_b = 2\pi\hat{N}_m$$

3.5.5 Estimação do tamanho efetivo (\hat{N}_e)

Para o cálculo do estimador do tamanho efetivo das populações, foram utilizados métodos baseados em variância das frequências alélicas, conforme Vencovsky (1992), de acordo com as situações:

a) Estimador do \hat{N}_e para indivíduos adultos de uma simples população

$$\hat{N}_e = \frac{n}{1+f}$$

Em que:

n - número de indivíduos;

f - coeficiente de endogamia médio da população.

b) Estimador do \hat{N}_e para várias populações

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\theta_p \left(\frac{1+C_p}{m} - \frac{1}{n} \right) + \frac{1+F}{2n}}$$

Em que:

θ_p - coancestria entre indivíduos dentro de populações, ou divergência genética entre populações;

M - número de populações avaliadas;

C_p - quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos (n_i) sobre populações;

n - número total de indivíduos avaliados nas populações ($n = \sum n_i$);

F - índice de fixação para o conjunto das populações.

3.5.6 Distribuição espacial dos genótipos

A análise de autocorrelação espacial (Sokal & Oden, 1978) foi utilizada para inferir a estrutura genética espacial das populações naturais de *Caryica brasiliense* Camb. Para realização destas análises foi utilizado o programa AUTOCORR. Cada indivíduo em todas as populações foi georeferenciado com aparelho receptor GPS, obtendo-se individualmente suas coordenadas geográficas em UTM. Os dados isoenzimáticos, juntamente com os dados obtidos do GPS, foram utilizados para a análise de autocorrelação espacial.

A autocorrelação foi estimada com os locos polimórficos em todos os indivíduos. O procedimento para esta análise considera a frequência de cada alelo (x_i) como uma variável. Dessa forma, cada genótipo homocigótico recebe o valor de $x_i = 1,0$, o heterocigótico $x_i = 0,5$ e, quando o alelo está ausente, $x_i = 0$. Na análise, foram utilizados alelos que ocorreram em pelo menos seis indivíduos da população, já que os mais raros não proporcionariam informação adicional a respeito da estrutura espacial. Para os locos dialélicos, somente um alelo foi analisado, uma vez que o segundo alelo tem frequência dependente do primeiro.

A estrutura espacial foi caracterizada a partir do índice I de Moran, de acordo com Sokal & Oden (1978). Este índice quantifica a similaridade genética de pares de indivíduos adjacentes em relação à amostra da população como um todo, o cálculo do índice é feito pela seguinte fórmula, para um alelo:

$$I = \frac{n \sum_{i \neq j} w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{\sum_{i \neq j} w_{ij} \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

em que:

n - número de indivíduos utilizados na análise;

- W_{ij} - pesos utilizados na comparação dos pontos;
- x_i - valor dado ao indivíduo i ($x_i = 1,0; 0,5$ ou $0,0$);
- x_j - valor dado ao indivíduo j ($x_j = 1,0; 0,5$ ou $0,0$);
- \bar{x} - valor médio dado aos indivíduos analisados.

O índice I pode assumir valores entre $+1$ (autocorrelação positiva completa, ou seja, os indivíduos pareados são idênticos) e -1 (autocorrelação negativa, isto é, os indivíduos pareados são completamente diferentes); e o valor zero indica ausência de autocorrelação espacial, com os indivíduos apresentando distribuição espacial aleatória.

Nesse trabalho foram utilizadas as comparações do vizinho mais próximo, conexão de Gabriel e comparações de classes de distâncias especificadas. Na análise do vizinho mais próximo, é dado peso $w = 1$ a pares de indivíduos adjacentes e peso zero aos demais pares possíveis (Sokal & Oden, 1978). No caso da conexão de Gabriel, dois indivíduos A e B são pareados (recebem peso 1) se nenhum outro indivíduo ocorrer sobre ou dentro do círculo cujo diâmetro é o segmento da reta AB (Sokal & Oden, 1978).

Na comparação de classes de distância, utilizaram-se todas as comparações dentro de uma classe de distância pré-estabelecida. Nessa análise, todas as comparações entre pares de indivíduos, cuja distância entre si apresentasse um valor incluído em um intervalo especificado, receberam peso 1, sendo que as demais comparações entre indivíduos receberam valor zero.

As classes de distância foram estabelecidas de forma que cada uma apresentasse pelo menos 30 conexões. Dessa forma, foram estabelecidas nove classes de distância entre indivíduos. 0 a 1000, 1000 a 2000, 2000 a 3000, 3000 a 4000, 4000 a 5000, 5000 a 6000, 6000 a 7000, 7000 a 8000, 8000 a 9500 metros. Construíram-se correlogramas para comparar o I obtido para diversas

classes de distância em relação às distâncias especificadas, indicando a extensão da estrutura espacial quando presente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sistemas enzimáticos

Dez sistemas enzimáticos foram escolhidos em função de apresentarem locos e alelos passíveis de interpretação, após serem testados 21 sistemas enzimáticos para a espécie *Caryocar brasiliense*. Os sistemas utilizados foram: β -Esterase (β -EST), Peroxidase (PO), Malato desidrogenase (MDH), Glutamato desidrogenase (GTDH), Álcool desidrogenase (ADH), Isocitrato desidrogenase (IDH), β -Galactose desidrogenase (GLDH), Sorbitol desidrogenase (SDH), Enzima málica (ME) e Xiquimato Desidrogenase (SKDH). Na Figura 4 estão representados, em esquema, os locos e alelos identificados nos géis. A Figura 5 ilustra um dos sistemas enzimáticos analisados.

Assim, considerando esses sistemas enzimáticos que apresentaram melhor resolução para a interpretação, obtiveram-se 10 locos polimórficos, sendo um loco com 3 alelos para cada um destes sistemas. Todos os locos obtidos apresentaram estrutura monomérica da enzima. Os sistemas β -EST e PO apresentaram duas zonas de atividade. Entretanto, os locos da região mais anódica não apresentaram condições de interpretação para os dois sistemas em questão.

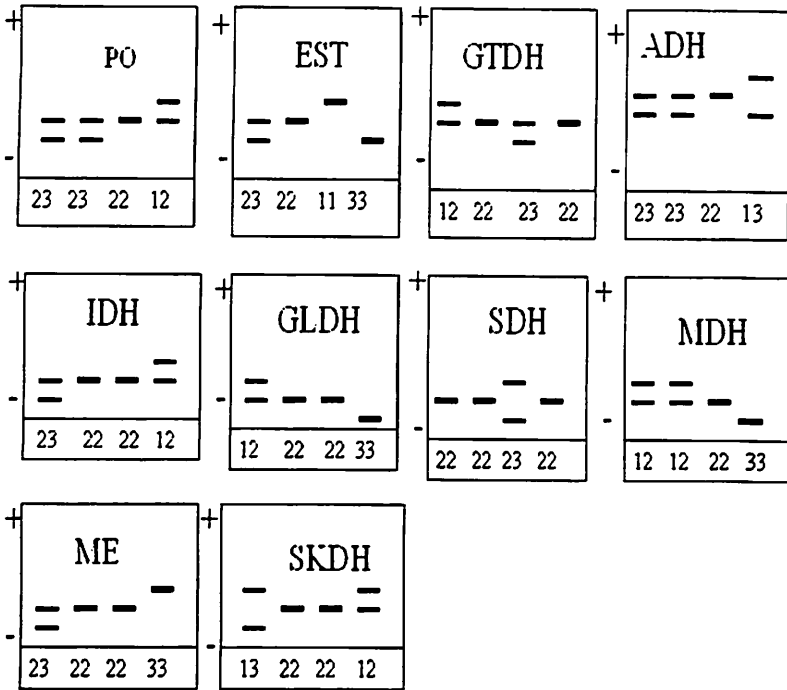


FIGURA 4 - Padrões enzimáticos e seus respectivos locos para os 10 sistemas enzimáticos revelados para *Caryocar brasiliense* Camb.: peroxidase (PO), esterase (β -EST), glutamato desidrogenase (GTDH), álcool desidrogenase (ADH), isocitrato desidrogenase (IDH), β -galactose desidrogenase (GLDH), sorbitol desidrogenase (SDH), malato desidrogenase (MDH), enzima málica (ME) e xiquimato desidrogenase (SKDH).

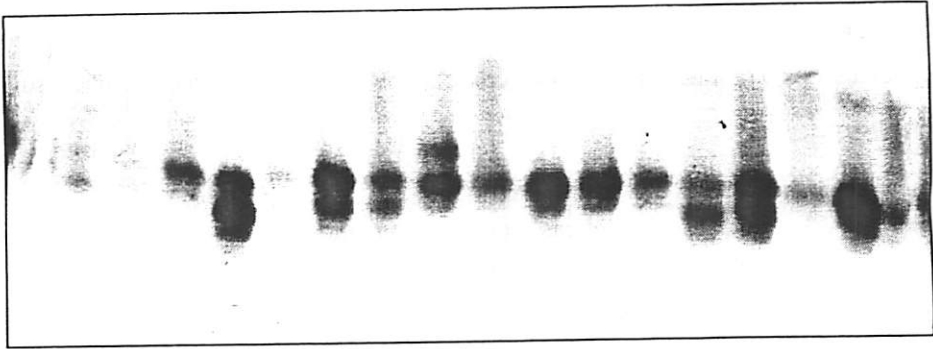


FIGURA 5 - Gel revelado para o sistema enzimático peroxidase de indivíduos de *Caryocar brasiliense* Camb.

4.2 Caracterização da variação genética

4.2.1 Frequências alélicas

As frequências de 30 alelos distribuídos em 10 locos aloenzimáticos foram obtidas para as quatro populações. Estes dados de frequências alélicas são a base para a estimação dos índices de diversidade genética, bem como dos parâmetros quantificadores da estrutura genética, e estão dispostos na Tabela 3.

De maneira geral, a distribuição das frequências alélicas foi semelhante em todas as populações, de forma que os alelos mais comuns e os mais raros tenderam a ser os mesmos. Resultado semelhante foi encontrado por Lacerda (1997) em estudos com *Myracrodruon urundeuva*, no semi-árido brasileiro. Entretanto, na população do município de Francisco Sá, percebe-se que a frequência do alelo 2 para todos os locos, em todos sistemas enzimáticos revelados, apresenta-se ligeiramente maior para estes indivíduos do que nas demais populações.

Em praticamente todas as populações, o alelo 3 de todos os locos apresentou baixa frequência, exceto para o loco EST (0,395) da população de Japonvar. Neste caso, o alelo 1 foi que apresentou baixa frequência (0,088).

Verifica-se também ausência do alelo 3 nos locos MDH, IDH, ME e SKDH, na população de Francisco Sá; e nos locos EST, MDH e GLDH, na população de Bocaiúva.

TABELA 3 - Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) nos indivíduos das quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb.

Locus	Alelo	Populações			
		Japonvar	Montes Claros	Francisco Sá	Bocaiúva
EST	1	0,088	0,375	0,214	0,448
	2	0,518	0,583	0,759	0,552
	3	0,395	0,042	0,027	0,000
	n	57	48	56	48
PO	1	0,415	0,377	0,288	0,300
	2	0,551	0,566	0,695	0,691
	3	0,034	0,057	0,017	0,009
	N	59	53	59	55
MDH	1	0,430	0,370	0,304	0,407
	2	0,535	0,565	0,696	0,585
	3	0,035	0,065	0,000	0,008
	n	57	54	51	59
GTDH	1	0,386	0,408	0,311	0,424
	2	0,570	0,550	0,679	0,576
	3	0,044	0,042	0,009	0,000
	N	57	60	53	59
ADH	1	0,397	0,404	0,331	0,432
	2	0,595	0,570	0,661	0,559
	3	0,009	0,026	0,008	0,008
	n	58	57	59	59
IDH	1	0,417	0,368	0,309	0,400
	2	0,533	0,561	0,691	0,583
	3	0,050	0,070	0,000	0,017
	n	60	57	55	60
SDH	1	0,347	0,328	0,289	0,432
	2	0,636	0,595	0,684	0,568
	3	0,017	0,078	0,026	0,000
	n	59	58	57	59

Continua ...

TABELA 3 - Continuação ...

GLDH	1	0,390	0,360	0,373	0,390
	2	0,585	0,605	0,618	0,610
	3	0,025	0,035	0,009	0,000
	n	59	57	55	59
ME	1	0,400	0,375	0,402	0,448
	2	0,592	0,596	0,598	0,526
	3	0,008	0,029	0,000	0,026
	n	60	52	51	58
SKDH	1	0,465	0,409	0,465	0,475
	2	0,500	0,536	0,535	0,517
	3	0,035	0,055	0,000	0,008
	N	57	55	57	60
Total	n	60	60	60	60

Estes dados podem estar sinalizando para a perda do alelo 3 nas populações. Esta eventual perda do alelo 3 poderia estar acontecendo devido à deriva genética e à seleção nas populações. Entretanto, esta hipótese só poderá ser confirmada em trabalhos futuros com progênies destas populações.

Analisando as frequências alélicas, não foi verificada a fixação de alelos em nenhum dos locos das populações estudadas. Pode-se perceber, ainda, que no conjunto das populações não houve grandes oscilações das frequências alélicas.

4.2.2 Índices de diversidade genética

As estimativas dos índices de diversidade genética geradas pelo programa BIOSYS foram obtidas a partir das estimativas de frequências alélicas observadas na Tabela 4.

O percentual de locos polimórficos (P) encontrado, utilizando como critério uma frequência de 99% para o alelo mais comum, foi de 100% para todas as populações. Este percentual encontrado se deve ao fato de não se ter trabalhado com locos monomórficos nas populações. Já o número de alelos por

loco variou de 2,60 nas populações de Bocaiúva e Francisco Sá a 3,0 na população de Japonvar e Montes Claros.

Estes valores estão bem próximos aos encontrados por Oliveira (1998) em trabalho com progênies de *C. brasiliense* no estado de Goiás. Neste trabalho, a autora encontrou também 100% de locos polimórficos para a grande maioria das populações estudadas, utilizando o critério do alelo mais comum com frequência igual ou inferior a 95% e número de alelos por loco variando entre 2,80 a 3,20.

A heterozigosidade média esperada (H_e) nas populações de *C. brasiliense* variou de 0,450 a 0,530 e a observada (H_o), de 0,583 a 0,817. Esses valores de heterozigosidade foram superiores aos encontrados por Oliveira (1998), que foram 0,317 a 0,413 e 0,186 a 0,310 para heterozigosidade esperada e observada, respectivamente, em progênies de *C. brasiliense* no estado de Goiás. Por outro lado, Collevatti et al. (2001), utilizando marcadores microssatélites, encontrou elevados valores de heterozigosidade esperada e observada para parte das populações naturais de *C. brasiliense* Camb. de diversas regiões do Brasil. Estes valores, que estão contidos em intervalos de 0,129 a 0,924 e 0,067 a 1,000 para H_e e H_o , respectivamente, segundo a autora se devem ao grande número de alelos por loco, que é característica dos marcadores microssatélites.

É difícil fazer comparações entre estimativas de divergência genética obtidas com isoenzimas e com microssatélites, tendo em vista a diferença fundamental na natureza da seqüência de DNA amostrada, pois isoenzimas são seqüências codificantes e microssatélites são regiões não codificantes e sujeitas a altas taxas de mutação pela sua estrutura (Ciampi, 1999).

TABELA 4 - Variabilidade genética de três populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. com base em dez locos e dez sistemas e enzimáticos.

	Populações			
	Japonvar	Montes Claros	Francisco Sá	Bocaiúva
Número médio de alelos por loco	3,000 (0,000)	3,00 (0,000)	2,60 (0,200)	2,60 (0,200)
Porcentagem de locos polimórficos (0,95)	100,0	100,0	100,0	100,0
Porcentagem de locos polimórficos (0,99)	100,0	100,0	100,0	100,0
Heterozigosidade observada (H _o)	0,739 (0,031)	0,817 (0,017)	0,583 (0,039)	0,743 (0,034)
Heterozigosidade esperada (H _e)	0,522 (0,009)	0,530 (0,005)	0,450 (0,011)	0,495 (0,008)
Índice de fixação (f)	-0,421 [-0,5; -0,2]	-0,548 [-0,6; -0,4]	-0,299 [-0,3; -0,1]	-0,508 [-0,6; -0,3]
Tamanho da amostra (n)	60	60	60	60

Os números entre parênteses referem-se aos desvios padrões e, entre colchetes, os intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade.

Os valores de heterozigosidade encontrados para o pequizeiro estão entre os mais elevados se comparados com outras espécies, como, por exemplo, *Euterpe edulis* (Reis, 1996), *Cryptocarya moschata* (Moraes, 1997), *Machaerium villosum* (Giudice-Neto, 1999) e *Cedrela fissilis* (Povoa, 2002); os resultados encontrados de heterozigosidade média também foram bastante elevados, mesmo tendo sido empregados apenas locos polimórficos.

Estes resultados com valores elevados de heterozigosidade nas populações sugerem a existência de mecanismos seletivos atuando em favor de heterozigotos. Resultados semelhantes já foram obtidos em outros trabalhos, como o de Hamrick et al. (1993) e Reis (1996). Este último ressalta que a seleção em favor de heterozigotos se fundamenta também no diferencial existente entre progênies e adultos em relação à quantidade de heterozigotos,

refletindo em índices de fixação/endogamia relativamente reduzidos, mas consistentes, nas progênies e índices de fixação negativos, em sua maioria para os indivíduos adultos.

Entretanto, como no presente estudo não foram utilizadas progênies, é importante que trabalhos futuros nessas populações contemplem o estudo periódico de progênies e, ou, plantas jovens nas diversas gerações, para que se possa averiguar se ocorre ou não a manutenção dos heterozigotos ao longo das gerações.

De maneira geral, os valores encontrados para os índices de diversidade, (heterozigosidade, número de alelos por loco polimórfico, e porcentagem de locos polimórficos) foram elevados, sempre similares ou superiores à maioria de outras espécies tropicais. Weir (1990) considera que a frequência de heterozigotos representa bem a variação existente em uma população. Além disso, a porcentagem de locos polimórficos e o número médio de alelos por loco polimórfico têm sido empregados como índices de diversidade em populações naturais, no sentido de caracterizar e comparar os níveis de variação genética nessas populações (Reis, 1996).

Os índices de fixação (\hat{f}) variaram de $-0,548$ a $-0,299$ para as populações e foram significativamente diferentes de zero. Estes valores indicam provável ausência de endogamia nestas populações, refletindo o excesso de heterozigotos.

Para *C. brasiliense*, Oliveira (1998) encontrou valores positivos de (\hat{f}) variando de 0,25 a 0,50, indicando endogamia para os indivíduos estudados. Entretanto, ressalta-se que este trabalho não contemplou os indivíduos adultos, mas somente progênies. E ainda, como os indivíduos adultos foram gerados quando as populações apresentavam maior tamanho efetivo, hoje, com os processos de fragmentação, o tamanho efetivo provavelmente pode ter

diminuído; por isso, Oliveira (1998) encontrou endogamia nas progênies estudadas.

Outros trabalhos mostram valores baixos ou negativos para \hat{f} , o que configura um indicativo de seleção para heterozigotos, como, por exemplo, *Pithecellobium pedicellare* (O'Maley & Bawa, 1987), *Beichmedia pendula* (Murawski et al., 1991), *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte et al., 1992), *Shorea magistophyla* (Murawski et al., 1994), *Cryptocaria maschata* (Moraes, 1997), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996; Póvoa 2002) e *Copaifera langsdorffii* (Oliveira, 2000), entre outros. No entanto, nestes trabalhos os valores baixos ou negativos dos índices de fixação ocorrem nas populações de indivíduos adultos em relação às suas progênies.

4.3 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade de Cockerham para as 4 populações de *C. brasiliense* Camb. encontram-se na Tabela 5, em que \hat{f} é o coeficiente de endogamia médio dentro de populações, \hat{F} é a endogamia para o conjunto das populações, e $\hat{\theta}_p$ é a divergência genética entre populações. Estes parâmetros são correspondentes às estimativas \hat{F}_{IS} , \hat{F}_{IT} e \hat{F}_{ST} de Wright.

As estimativas obtidas indicam ausência de endogamia dentro ($\hat{f} = -0,449$) e também no conjunto das populações ($\hat{F} = -0,420$). Tendo em vista os intervalos de confiança, esta ausência de endogamia é estatisticamente diferente de zero. Assim, estas estimativas são condizentes com o excesso de heterozigotos discutidos anteriormente.

O estudo de variabilidade revela um valor médio de $\hat{\theta}_p = 0.020$, significativo para o conjunto das populações, isto é, 2% de divergência genética

entre estas, indicando, assim, que 98% da variabilidade genética ocorre dentro das populações.

TABELA 5 - Coeficientes de coancestralidade entre populações de *Caryocar brasiliense* Camb. (os intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade se encontram entre colchetes).

Loco	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$
EST	-0,038	0,092	0,126
PO	-0,439	-0,416	0,016
MDH	-0,486	-0,468	0,012
GTDH	-0,513	-0,501	0,008
ADH	-0,496	-0,490	0,004
IDH	-0,448	-0,432	0,011
SDH	-0,466	-0,451	0,010
GLDH	-0,445	-0,450	-0,003
ME	-0,543	-0,542	0,001
SKDH	-0,600	-0,600	0,000
Média	-0,449	-0,420	0,020
	[-0,515; -0,350]	[-0,507; -0,288]	[0,004; 0,046]

A divergência populacional observada não se distribuiu igualmente entre as populações. Isto pode ser observado comparando-se os valores de $\hat{\theta}_p$, tomando-se duas populações por vez (Tabela 6).

Pode-se observar que os valores de $\hat{\theta}_p$ estão relativamente próximos, com exceção do pareamento Montes Claros/Bocaiúva (0,004). Entretanto, os pareamentos só foram estatisticamente significativos quando feitos incluindo a população de Francisco Sá.

Isto indica que as populações de Japonvar, Montes Claros e Bocaiúva são mais similares entre si e tendem a divergir da população de Francisco Sá. Esse argumento pode ser sustentado pelo fato de que a população de Francisco Sá encontra-se numa altitude superior à das outras populações: além disso, sua população possui menor grau de antropismo se comparada às outras populações.

além de se encontrar em condições climáticas diferentes. Este conjunto de fatores pode estar causando esta divergência entre populações, por deriva e ou seleção, relacionada às diferenças de ambiente.

TABELA 6 - Divergência genética ($\hat{\theta}_p$) tomando as populações de *Caryocar brasiliense* duas a duas.

	Populações					
	Japonvar M. Claros	Japonvar F. Sá	Japonvar Bocaiúva	M.Claros F. Sá	M.Claros Bocaiúva	F. Sá Bocaiúva
$\hat{\theta}_p$	0,018	0,031	0,029	0,014	0,004	0,019
	[-0.0021: 0.053]	[0.0052: 0.069]	[-0.0004: 0,078]	[0.0057: 0,0251]	[-0.000004: 0,0083]	[0,0048: 0,0375]

[] intervalo de confiança obtido a partir de 10.000 reamostragens "Bootstrap".

Este fato pode ser confirmado ao se agruparem as populações de Japonvar, Montes Claros e Bocaiúva e fazendo uma análise do conjunto destas três populações com a população de Francisco Sá.

Ao analisar a estrutura genética do agrupamento das três populações em questão em relação a Francisco Sá, verifica-se que o $\hat{\theta}_p$ deste pareamento é igual a 0,015, indicando que houve uma divergência significativa de 1,5% entre os grupos, a qual pode estar sustentada na diferença de ambientes entre as populações em questão.

De qualquer forma, apesar de significativa, as divergências entre as populações, ou mesmo entre o grupo de populações (Japonvar, Montes Claros e Bocaiúva) e a população de Francisco Sá, são relativamente baixas. Estes resultados parecem razoáveis para uma espécie com ampla distribuição geográfica, como é o caso do pequizeiro. Assim, estes resultados sugerem que as populações sejam integrantes de uma população contínua.

Entretanto, os processos de fragmentação nos cerrados do Norte de Minas ocorreram num espaço de tempo inferior a 100 anos, o que pode ser

insuficiente para que se fixassem as eventuais divergências genéticas, seja por seleção ou por deriva, uma vez que esta espécie é perene (de ciclo longo).

Assim, estas populações podem ser compostas em sua maioria por indivíduos que se encontravam presentes antes da perturbação. Portanto, é necessário um acompanhamento das gerações futuras para a verificação dos níveis de diversidade genética entre estas populações.

4.4 Aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O EHW tem como pressupostos cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, deriva genética, seleção e tamanho infinito das populações (Metter & Greg, 1973; Futuyma, 1992). Assim, devido às pressuposições de cruzamentos aleatórios, é esperado que uma população panmítica mantenha inalteradas as frequências de seus alelos a cada geração (Futuyma, 1992).

Como neste trabalho não foram estudadas progênes, os resultados e análises obtidas têm por base os indivíduos adultos. Dessa forma, foram realizadas verificações sobre o ajuste das proporções genotípicas ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As quatro populações estudadas foram submetidas à verificação da aderência ao EHW (Tabela 7). Para tal análise utilizou-se o teste exato de Fisher. Este teste foi priorizado, considerando que o número de indivíduos esperados (N_e) por genótipos foi inferior a 5, o que compromete a análise convencional do teste de qui-quadrado (χ^2).

De maneira geral, os testes exatos são utilizados quando se têm tamanhos amostrais pequenos, para os quais há maior chance de haver números esperados reduzidos, podendo ser aplicados a amostras maiores, quando a existência de alelos raros leva também a números esperados pequenos (Weir,

O teste exato de Fisher apresentou desvios significativos do EHW em 90,0%, 100%, 40% e 90% dos locos nas populações de Japonvar, Montes Claros, Francisco Sá e Bocaíuva, respectivamente. Analisando a Tabela 7, verifica-se que a maioria dos locos apresenta-se fora do EHW, indicando a atuação de forças evolutivas, possivelmente contra homozigotos ou a favor dos heterozigotos, como demonstrado pelo índice de fixação negativo. Oliveira (1998) também verificou que grande parte das progenies de peduzinhos estudadas no estado de Goiás encontrava-se fora do EHW.

* P > 0,05; ** P < 0,01; ns = não significativo.

Populações	P (Fisher)			
	Japonvar	Montes Claros	Francisco Sá	Bocaíuva
EST	0,791 ^{ns}	0,003**	0,713 ^{ns}	1,000 ^{ns}
PO	0,000**	0,000**	0,540 ^{ns}	0,000**
MDH	0,000**	0,000**	0,105 ^{ns}	0,000**
GTDH	0,000**	0,000**	0,055 ^{ns}	0,000**
ADH	0,000**	0,000**	0,042*	0,000**
IDH	0,001**	0,000**	0,059 ^{ns}	0,000**
SDH	0,000**	0,000**	0,375 ^{ns}	0,000**
GLDH	0,000**	0,000**	0,009**	0,000**
ME	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**
SKDH	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**

4.5 Fluxo gênico

As estimativas de fluxo gênico foram realizadas conforme a relação entre a divergência genética e a quantidade de migrantes Nm , e foram feitas para cada par de populações avaliadas (Tabela 8).

TABELA 8 - Fluxo gênico (\hat{N}_m) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) para populações de *Caryocar brasiliense* Camb.

Populações	N	np	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m	\hat{N}_b
Japonvar e Montes Claros	120	2	0,018	3,60	22,62
Japonvar e Francisco Sá	120	2	0,031	1,95	12,25
Japonvar e Bocaiúva	120	2	0,029	2,09	13,13
Montes Claros e Francisco Sá	120	2	0,014	4,40	27,65
Montes Claros e Bocaiúva	120	2	0,004	15,56	97,77
Francisco Sá e Bocaiúva	120	2	0,018	3,41	21,42
Média				5,16	32,47
Todas Populações	240	4	0,020	12,25	76,97

N = número de indivíduos amostrados; np = número de populações.

O \hat{N}_m e o \hat{N}_b médios estimados das populações foram 5,16 e 32,47; já para o conjunto das populações, estes foram 12,25 e 76,97; estes resultados mostram-se convergentes com o valor de ($\hat{\theta}_p = 0,02$). Resultados com a mesma tendência foram encontrados para outras espécies, como, por exemplo, *Euterpe edulis* (Reis, 1996); *Machaerium villosum* (Giudice-Neto, 1999) e *Cariniana Legalis* (Sebbenn, 2001).

Verifica-se, neste trabalho, que o número médio de migrantes por geração é bastante alto, $\hat{N}_m = 5,16$, e o tamanho da vizinhança é em torno de 32 indivíduos. Isso indica que o número de genitores que trocam alelos ao acaso está em torno de 32 indivíduos. Estes resultados apontam para um fluxo gênico suficientemente capaz de impedir a ocorrência dos efeitos de deriva genética.

Segundo Slatkin & Barton (1989), os valores de \hat{N}_m e \hat{N}_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Assim, se \hat{N}_m ou \hat{N}_b são maiores que 1, então o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir uma diferenciação em função de deriva genética. Apesar disso, os altos valores de fluxo gênico entre as populações de pequiheiro parecem estar relacionados à baixa divergência entre as populações (2%) que ocorreram em função dos elevados índices de heterozigosidade encontrados.

No caso do pequiheiro, o alto fluxo gênico e a baixa diversidade entre as populações podem estar relacionados à sua polinização, que é realizada pelo morcego, cujo vôo atinge grandes distâncias, e também à sua dispersão, que é realizada por mamíferos e grandes aves (Vilela, 1998).

Os valores estimados de fluxo gênico indicam maior similaridade entre as populações de Montes Claros e Bocaiúva ($\hat{N}_m = 15.56$), estas duas populações foram as que apresentaram maior tamanho de vizinhança ($\hat{N}_b = 97.77$). Estes valores são plausíveis, tendo em vista a menor divergência entre estas duas populações (0.004). Além disso, estas duas populações estão mais próximas entre si, em torno de 35 km, do que as demais, que estão distantes aproximadamente 100 km umas das outras.

4.6 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)

O tamanho efetivo de uma população é o número de indivíduos de uma população idealizada, que apresenta a mesma magnitude de deriva genética que a população real (Moraes, 1997). Assim, o entendimento do tamanho efetivo é imprescindível quando se tem como objetivos a conservação de germoplasma e conservação *in situ*.

Neste trabalho, as estimativas de tamanho efetivo populacional foram obtidas a partir dos coeficientes de divergência genética entre populações (θ_p) e coeficientes de endogamia médio para o conjunto das populações (Tabela 5).

Para todas as populações, as estimativas de \hat{N}_e (Tabela 9) calculadas foram superiores ao número de indivíduos amostrados. Para as populações de Japonvar, Montes Claros, Francisco Sá e Bocaiúva, foram coletados 60 indivíduos em cada uma. Os valores de tamanho efetivo para estas populações foram 103,63; 132,74; 85,59; 122,20 indivíduos, respectivamente. Estes valores representam, geneticamente, populações panmíticas ideais.

As estimativas de tamanho efetivo obtidas neste trabalho reafirmam a inexistência de endogamia dessas populações, uma vez que o tamanho efetivo calculado para cada uma das populações foi superior ao número de indivíduos amostrados e em função das altas taxas de heterozigosidade encontradas. Segundo Póvoa (2002), os heterozigotos, por carregarem sempre dois alelos, representam um maior número de indivíduos na população.

Para maximização das atividades de coleta de sementes, é importante ter informações sobre a representatividade genética das matrizes da população, podendo então ser calculado o número de matrizes a serem amostradas (Vencovsky, 1987).

TABELA 9 - Tamanho efetivo (\hat{N}_e) e Número de indivíduos (N) de quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. a partir dos dados de indivíduos adultos.

População	\hat{N}_e	N
Japonvar	103,63	60
Montes Claros	132,74	60
Francisco Sá	85,59	60
Bocaiúva	122,20	60
Todas	81,63	240

Assim, para a coleta de sementes de *Caryocar brasiliense* pode-se recomendar uma amostragem de pelo menos 82 indivíduos matrizes para que se garanta a manutenção da variabilidade genética nas sementes. No enriquecimento ou recuperação de áreas, a coleta de sementes a partir deste princípio proporcionará infinitas novas recombinações genotípicas na população, elevando seu potencial evolutivo (Póvoa, 2002).

Além disso, no caso do pequizeiro, que sofre intensivo extrativismo dos seus frutos, seria de grande importância que a partir do conhecimento do tamanho efetivo dessas populações fossem deixadas cotas de frutos para propagação natural, uma vez que, com a atividade extrativista, muitas vezes grande maioria dos frutos acaba sendo coletada. No caso do pequizeiro, esta é uma questão de suma importância, tendo em vista a grande relevância que o extrativismo da espécie representa para os agricultores do cerrado.

4.7 Autocorrelação espacial de genótipos

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados obtidos de autocorrelação espacial, obtidos com o I de Moran usando a de conexão Gabriel e o algoritmo vizinho mais próximo. Os correlogramas gerados estão apresentados nas Figuras 6, 7, 8 e 9.

Para todos os locos e alelos analisados, em todas as populações os valores de I de Moran não foram significativos, situando-se próximos de zero para todos os locos, em todas as populações. Isto indica que em cada uma das populações não foi detectada presença de estruturação espacial, o que sugere distribuição aleatória dos genótipos dentro delas.

TABELA 10 - Coeficientes de autocorrelação espacial (índice I de Moran) para dois métodos de pareamento de indivíduos: vizinho mais próximo (I_{vmp}) e conexão de Gabriel (I_g), distância média entre indivíduos pareados e número de comparações em quatro populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb.

Loco	Alelo	Populações							
		Japonvar		Montes Claros		Francisco Sá		Bocaiúva	
		I_g	I_{vmp}	I_g	I_{vmp}	I_g	I_{vmp}	I_g	I_{vmp}
EST1	1	0.084 ^{ns}	0.150 ^{ns}	0.039 ^{ns}	-0.070 ^{ns}	0.101 ^{ns}	0.081 ^{ns}	0.025 ^{ns}	-0.005 ^{ns}
EST2	2	-0.105 ^{ns}	-0.033 ^{ns}	-0.096 ^{ns}	-0.173 ^{ns}	-0.275 ^{ns}	0.416 ^{ns}	0.218 ^{ns}	0.108 ^{ns}
PO2	2	-0.086 ^{ns}	-0.033 ^{ns}	-0.036 ^{ns}	-0.055 ^{ns}	0.143 ^{ns}	0.200 ^{ns}	0.117 ^{ns}	0.215 ^{ns}
MDH2	2	-0.053 ^{ns}	-0.053 ^{ns}	-0.013 ^{ns}	-0.034 ^{ns}	-0.039 ^{ns}	-0.043 ^{ns}	-0.041 ^{ns}	-0.025 ^{ns}
GTDH2	2	-0.143 ^{ns}	-0.133 ^{ns}	0.157 ^{ns}	0.137 ^{ns}	-0.203 ^{ns}	-0.157 ^{ns}	0.009 ^{ns}	0.022 ^{ns}
ADH2	2	0.011 ^{ns}	-0.070 ^{ns}	-0.139 ^{ns}	-0.163 ^{ns}	-0.141 ^{ns}	0.012 ^{ns}	-0.047 ^{ns}	-0.091 ^{ns}
IDH2	2	0.020 ^{ns}	-0.060 ^{ns}	0.073 ^{ns}	-0.036 ^{ns}	-0.084 ^{ns}	-0.126 ^{ns}	0.122 ^{ns}	0.036 ^{ns}
SDH2	2	-0.010 ^{ns}	-0.043 ^{ns}	-0.027 ^{ns}	-0.017 ^{ns}	-0.025 ^{ns}	-0.043 ^{ns}	-0.040 ^{ns}	-0.060 ^{ns}
GLDH2	2	-0.048 ^{ns}	-0.000 ^{ns}	0.306 ^{ns}	0.375 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.100 ^{ns}	0.052 ^{ns}	0.178 ^{ns}
ME2	2	-0.041 ^{ns}	-0.249 ^{ns}	0.048 ^{ns}	0.069 ^{ns}	-0.273 ^{ns}	-0.258 ^{ns}	0.024 ^{ns}	-0.061 ^{ns}
SKDH2	2	0.050 ^{ns}	0.087 ^{ns}	0.046 ^{ns}	-0.217 ^{ns}	0.050 ^{ns}	-0.090 ^{ns}	-0.119 ^{ns}	-0.013 ^{ns}
Distância média (m)		167.0 ± 212.0	99.0 ± 108.0	164.0 ± 208.0	92.0 ± 52.0	173.0 ± 249.0	98.0 ± 78.0	276.0 ± 5657.0	247.0 ± 9081.0
Número de comparações		70	40	67	40	70	40	68	41

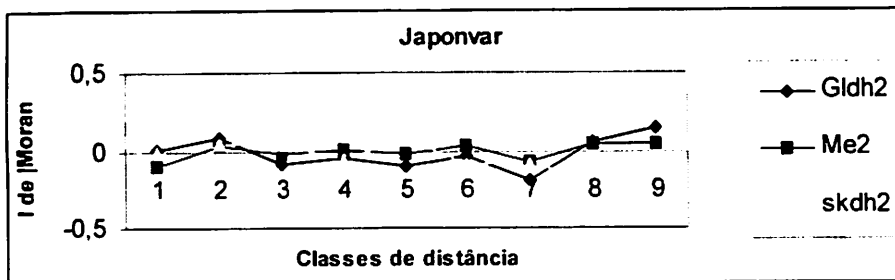
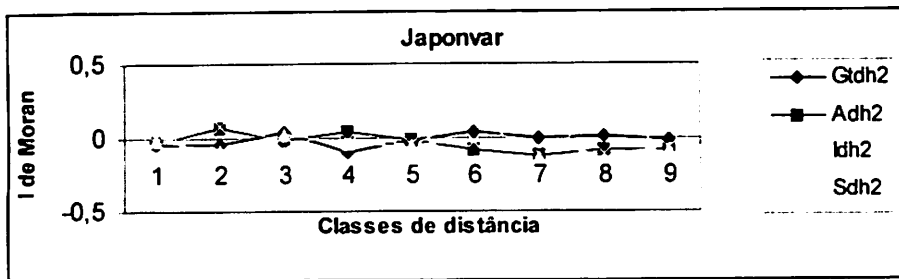
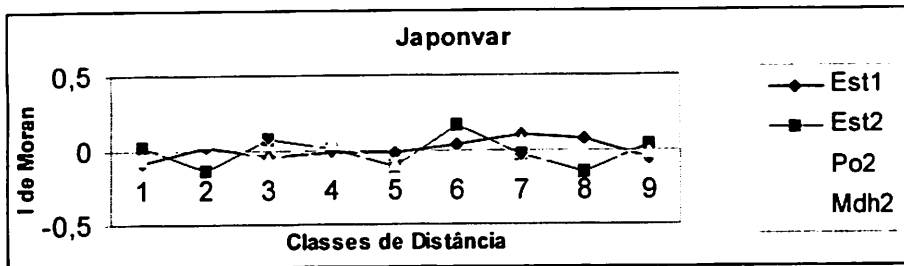


FIGURA 6 - Correlogramas para os alelos dos locos EST1, EST2, PO2, MDH2, GTDH2, ADH2, IDH2, SDH2, GLDH2, ME2 e SKDH2, para 9 classes de distância para a população de *Caryocar brasiliense* do município de Japonvar.

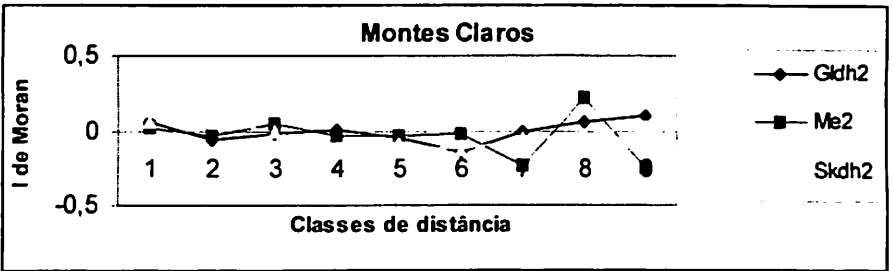
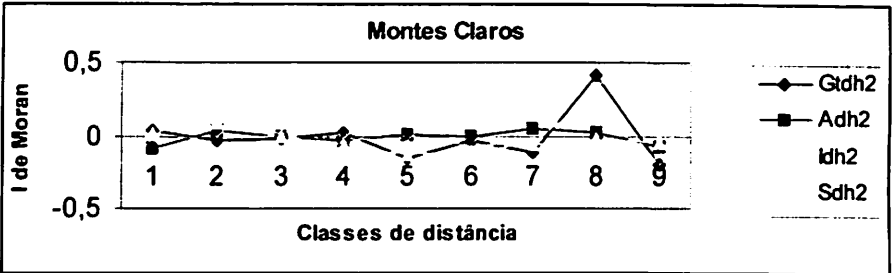
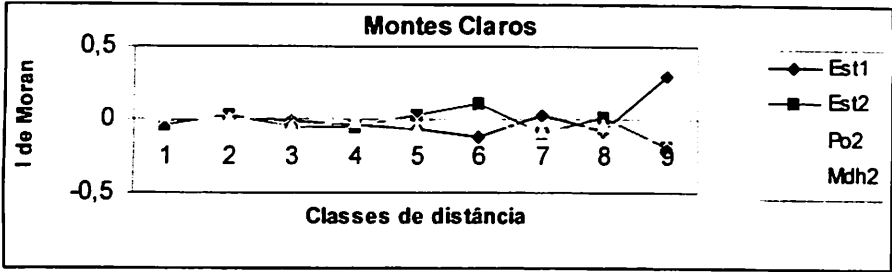


FIGURA 7 - Correlogramas para os alelos dos locos EST1, EST2, PO2, MDH2, GTDH2, ADH2, IDH2, SDH2, GLDH2, ME2 e SKDH2, para 9 classes de distância para a população de *Caryocar brasiliense* do município de Montes Claros.

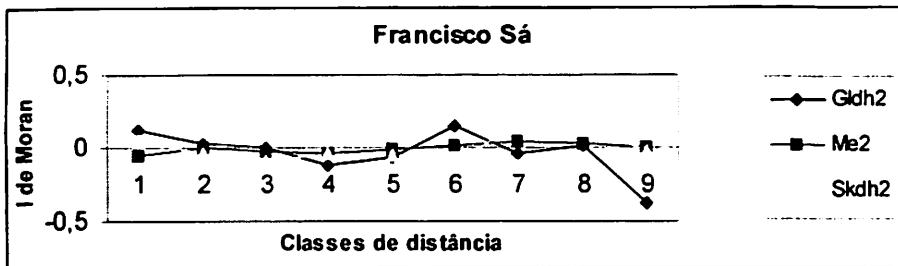
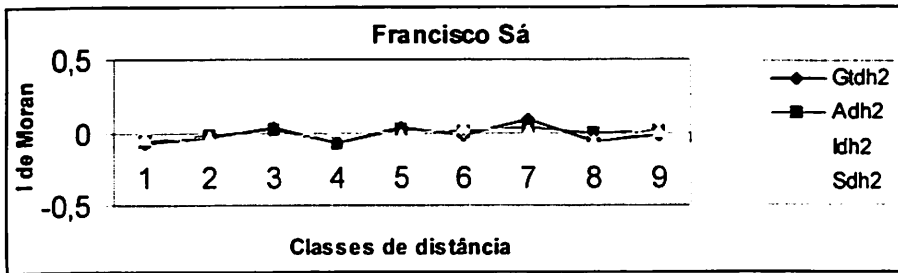
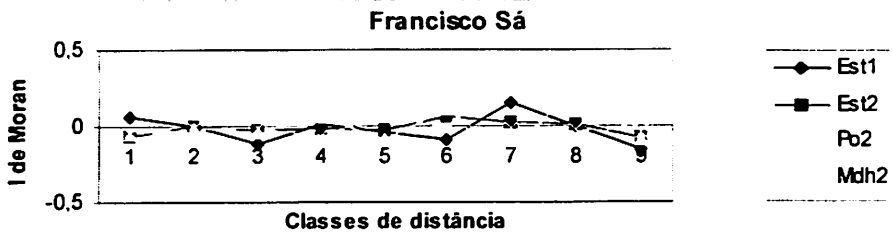


FIGURA 8 - Correlogramas para os alelos dos locos EST1, EST2, PO2, MDH2, GTDH2, ADH2, IDH2, SDH2, GLDH2, ME2 e SKDH2, para 9 classes de distância para a população de *Caryocar brasiliense* do município de Francisco Sá.

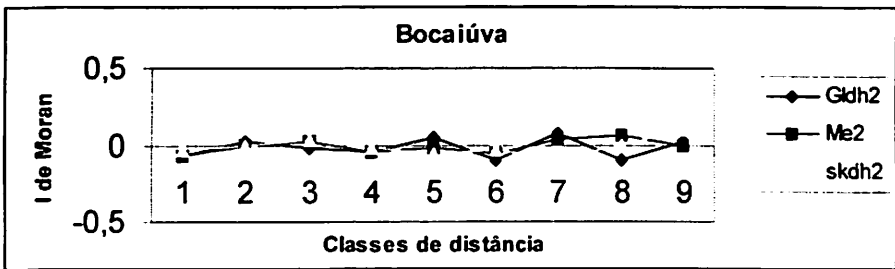
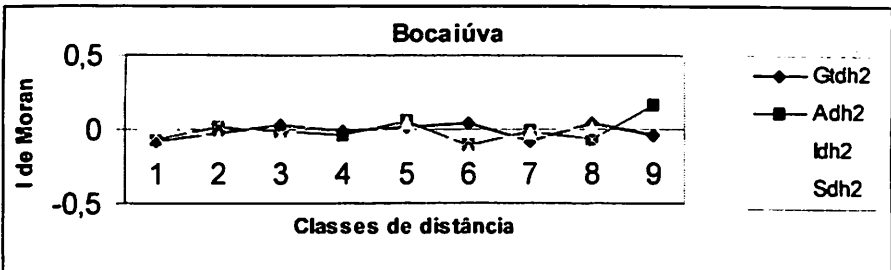
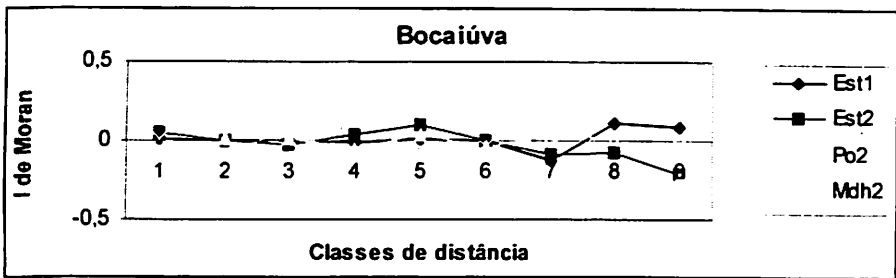


FIGURA 9 - Correlogramas para os alelos dos locos EST1, EST2, PO2, MDH2, GTDH2, ADH2, IDH2, SDH2, GLDH2, ME2 e SKDH2, para 9 classes de distância para a população de *Caryocar brasiliense* do município de Bocaiúva.

A não estruturação genética espacial pode ser confirmada pela análise de autocorrelação (Tabelas 11, 12, 13 e 14) para as 9 classes de distância, em que todos os dados de todas populações não foram estatisticamente significativos a 5% de probabilidade.

Os resultados para *C. brasiliense* são coincidentes com o de outras espécies que também apresentam padrão aleatório de estruturação espacial da variação genética, como observado em *Psychotria nervosa* (Dewey & Heywood, 1988), *Platypodium elegans* (Hamrick et al., 1993), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997) *Aspidosperma polyneurum* (Maltez, 1997), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997), *Machaerium villosum* (Giudice Neto, 1999) e *Myracrodruon urundeuva* (Lacerda, 1997), *Cedrela fissilis* (Povoa, 2002).

O padrão aleatório de variação genética espacial da espécie pode ser atribuído ao intenso fluxo gênico encontrado; este fator pode prevenir a formação de estrutura, evitando divergências locais. No caso do pequizeiro, este alto fluxo gênico pode ocorrer em função de um dos seus principais polinizadores, que é o morcego, cujo vôo atinge longas distâncias. Além disso, suas sementes são dispersas por mamíferos e grandes aves. Estes aspectos podem contribuir para a distribuição aleatória dos genótipos.

Os resultados da análise de autocorrelação espacial encontrados são coerentes com as outras estimativas apuradas neste trabalho, como, por exemplo, as estatísticas F. Conforme verificou-se nessas estatísticas, as populações apresentaram baixa divergência entre si ($\hat{\theta}_p = 0.020$) e ausência de endogamia ($\hat{F} = -0,420$).

TABELA 11 - Coeficientes de autocorrelação espacial (coeficiente I de Moran) para 9 classes de distância, alelos, os 10 locos polimórficos e número de comparações numa população de *Caryocar brasiliense* no município de Japonvar.

Loco	Alelo	Classes de distância ^a								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
EST1	1	-0,081	0,023	-0,047	-0,018	-0,014	0,036	0,102	0,074	-0,062
EST2	2	-0,020	-0,137	0,070	0,013	-0,113	0,170	-0,037	-0,159	0,039
PO2	2	-0,064	0,057	-0,054	0,047	-0,094	-0,051	0,058	-0,016	-0,023
MDH2	2	-0,055	0,082	0,034	-0,060	-0,043	-0,025	-0,089	-0,060	-0,045
GTDH2	2	-0,046	-0,040	0,047	-0,090	-0,011	0,039	0,005	0,016	-0,008
ADH2	2	-0,026	0,071	-0,019	0,035	-0,012	-0,080	-0,124	-0,086	-0,079
IDH2	2	-0,010	-0,082	0,024	-0,039	-0,052	0,151	-0,131	0,162	-0,086
SDH2	2	-0,024	0,081	-0,010	-0,010	-0,040	-0,029	-0,072	-0,113	-0,062
GLDH2	2	0,011	0,080	-0,087	-0,039	-0,094	-0,027	-0,185	0,063	0,147
ME2	2	-0,099	0,032	-0,022	0,006	-0,022	0,031	-0,067	0,043	0,043
SKDH2	2	-0,012	0,048	0,048	-0,054	0,084	-0,089	-0,083	-0,179	-0,163
No de comparações		302	289	279	233	209	163	126	84	86

^aClasses de distância em metros: 0 a 1000, 1000 a 2000, 2000 a 3000, 3000 a 4000, 4000 a 5000, 5000 a 6000, 6000 a 7000, 7000 a 8000, 8000 a 9500.

TABELA 12 - Coeficientes de autocorrelação espacial (coeficiente I de Moran) para 9 classes de distância, alelos, os 10 locos polimórficos e número de comparações numa população de *Caryocar brasiliense* no município de Montes Claros.

Loco	Alelo	Classes de distância*								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
EST1	1	-0,007	0,011	-0,008	-0,035	-0,063	-0,122	0,023	-0,087	0,296
EST2	2	-0,038	0,027	-0,059	-0,051	0,026	0,114	-0,091	0,014	-0,192
PO2	2	0,023	0,003	-0,050	-0,019	-0,063	0,022	-0,081	-0,037	0,015
MDH2	2	0,002	-0,002	0,007	-0,014	0,001	-0,047	-0,063	-0,098	-0,146
GTDH2	2	0,034	-0,041	-0,021	0,022	-0,156	-0,028	-0,117	0,415	-0,195
ADH2	2	-0,083	0,030	-0,001	-0,039	0,006	-0,001	0,048	0,024	-0,077
IDH2	2	0,027	0,094	-0,002	-0,081	-0,124	-0,104	-0,060	-0,014	-0,048
SDH2	2	-0,027	-0,011	-0,006	-0,024	-0,032	-0,062	-0,064	0,326	-0,193
GLDH2	2	0,064	-0,065	-0,024	0,005	-0,051	-0,141	-0,011	0,056	0,100
ME2	2	0,018	-0,032	0,046	-0,032	-0,039	-0,015	-0,229	0,220	-0,243
SKDH2	2	0,058	0,073	-0,009	-0,129	-0,082	-0,132	-0,043	-0,034	0,037
No de comparações		336	317	306	230	187	160	115	71	50

*Classes de distância em metros: 0 a 1000, 1000 a 2000, 2000 a 3000, 3000 a 4000, 4000 a 5000, 5000 a 6000, 6000 a 7000, 7000 a 8000, 8000 a 9500.

TABELA 13 - Coeficientes de autocorrelação espacial (coeficiente I de Moran) para 9 classes de distância, alelos, os 10 locos polimórficos e número de comparações numa população de *Caryocar brasiliense* no município de Francisco Sá.

Loco	Alelo	Classes de distância [*]								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
EST1	1	0,068	0,000	-0,116	0,018	-0,033	-0,090	0,158	0,002	-0,148
EST2	2	-0,064	-0,003	-0,032	-0,017	-0,020	0,062	0,026	0,016	-0,073
PO2	2	-0,055	-0,019	-0,043	0,061	-0,094	0,114	-0,186	0,266	-0,085
MDH2	2	-0,053	-0,017	-0,010	-0,058	0,083	-0,009	-0,011	-0,031	-0,038
GTDH2	2	-0,070	-0,028	0,037	-0,072	0,028	-0,021	0,089	-0,067	-0,018
ADH2	2	-0,065	-0,014	0,022	-0,077	0,014	0,012	0,028	-0,006	0,001
IDH2	2	-0,041	-0,040	-0,070	0,048	-0,018	0,035	0,010	-0,058	0,005
SDH2	2	-0,006	-0,088	-0,066	-0,008	0,132	-0,040	-0,066	-0,057	0,034
GLDH2	2	0,126	0,027	-0,004	-0,127	-0,066	0,150	-0,044	0,013	-0,038
ME2	2	-0,051	-0,002	-0,030	-0,039	-0,020	0,014	0,035	0,025	-0,004
SKDH2	2	0,048	-0,034	-0,091	-0,038	-0,058	-0,105	0,157	0,166	-0,027
No de comparações		309	261	257	245	212	167	113	79	129

* Classes de distância em metros: 0 a 1000, 1000 a 2000, 2000 a 3000, 3000 a 4000, 4000 a 5000, 5000 a 6000, 6000 a 7000, 7000 a 8000, 8000 a 9500.

TABELA 14 - Coeficientes de autocorrelação espacial (coeficiente I de Moran) para 9 classes de distância, alelos, os 10 locos polimórficos e número de comparações numa população de *Caryocar brasiliense* no município de Bocaitiva.

Loco	Alelo	Classes de distância ^a								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
EST1	1	0,007	0,001	-0,012	-0,008	0,007	-0,004	-0,126	0,110	0,088
EST2	2	0,046	-0,071	-0,027	0,033	0,094	-0,085	-0,089	-0,072	-0,209
PO2	2	0,135	0,007	0,011	-0,050	0,041	-0,043	-0,293	-0,173	-0,237
MDH2	2	0,018	-0,071	0,066	-0,100	-0,048	-0,043	0,020	0,031	0,035
GTDH2	2	-0,083	-0,026	0,033	-0,016	0,014	0,039	-0,079	0,036	-0,037
ADH2	2	-0,068	0,015	-0,012	-0,036	0,051	-0,107	-0,007	-0,065	0,166
IDH2	2	0,019	-0,055	-0,049	0,114	0,040	-0,148	-0,028	0,019	-0,293
SDH2	2	-0,043	0,046	-0,041	0,077	-0,048	-0,067	-0,047	-0,069	-0,102
GLDH2	2	-0,077	0,019	-0,021	-0,042	0,049	-0,096	0,074	-0,093	0,018
ME2	2	-0,067	-0,007	0,014	-0,051	-0,017	-0,057	0,037	0,064	-0,004
SKDH2	2	-0,027	-0,001	0,027	-0,023	-0,055	-0,031	-0,082	-0,010	0,091
No de comparações		300	333	266	235	200	156	165	100	62

^a Classes de distância em metros: 0 a 1000, 1000 a 2000, 2000 a 3000, 3000 a 4000, 4000 a 5000, 5000 a 6000, 6000 a 7000, 7000 a 8000, 8000 a 9500.

5 CONCLUSÕES

O estudo das populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. por meio de dados isoenzimáticos possibilitou chegar às seguintes conclusões:

- Com a análise das freqüências alélicas, pode-se concluir que existe variabilidade ocorre tanto dentro quanto entre as populações;
- A partir dos dados de freqüência alélica, conclui-se que nas populações estudadas não ocorre fixação de alelos;
- Nas populações analisadas, grande parte da variação se encontra dentro das populações e não entre elas;
- Os altos índices de diversidade encontrados sugerem a existência de mecanismos seletivos atuando em favor dos heterozigotos (seleção contra homozigotos) e, conseqüentemente, baixa endogamia nas populações estudadas;
- As populações de Japonvar, Montes Claros e Bocaiúva tendem a ser mais semelhantes entre si e divergentes da população de Francisco Sá;
- As populações apresentam-se fora do EHW, possivelmente em decorrência do excesso de heterozigotos indicado pelos índices de fixação que foram negativos;
- De maneira geral, a baixa diversidade entre as populações pode ser explicada pelos altos níveis de fluxo gênico entre estas; e as populações mais similares são a de Montes Claros e Bocaiúva por apresentarem a menor distância entre si (35 Km);
- A estimativa de tamanho efetivo populacional para *C. brasiliense* sugere um valor mínimo para coleta de germoplasma de pelo menos 82 indivíduos matrizes para que se garanta a manutenção da variabilidade genética nas sementes;

- A análise de autocorrelação espacial de genótipos demonstra não haver estruturação nas populações estudadas, indicando que os genótipos estão distribuídos aleatoriamente nestas populações.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOLI, J. et al. Caracterização da região dos Cerrados. In: GOEDERT, W.J. (Ed.). **Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. São Paulo: Planaltina: Embrapa-CPAC; São Paulo: Nobel, 1986. 422p.

ALFENAS, C. A. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. **Piqui e buriti: importância alimentar a população dos cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1994. 38p. (Documentos, 54).

ARAUJO, 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.

BARRADAS, M.M. Informações sobre floração, frutificação e dispersão de piqui, *Caryocar brasiliense* Camb. (Cariocaceae). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.24, n.11, p.1063-1072, 1972.

BARRADAS, M.M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui), em vários fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, São Paulo, v.9, n.1/4, p.69-95, 1973.

BARRETT, S. C. H.; HUSBAND, B.C. The genetics of plant migration and colonization. In: BROW, A.H.D. et al. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p.254-277.

BERG, E.V.D. **Estrutura de comunidades e populações vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 30p.

BERG, E.E.; HAMRICK . J.L. Quantification of diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**. v.27, p. 415-424. 1997.

BIERREGAARD Jr. et al. The biological dynamics of tropical rain forest fragments. **BioScience**, v, 42, p.859-866, 1992.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3.ed. Fortaleza: 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. 1985. 364p. (Documentos, 16).

BROWN, A.H.D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. **Theoretical Applied and Genetics**, Berlin, v. 52, n. 4, p. 145-157, 1978.

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

CIAMPI, A. N. **Desenvolvimento e utilização de marcadores microssatélites, AFLP e seqüenciamento de cpDNA, no estudo da estrutura genética e parentesco em populações de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) em matas de galeria no cerrado.** 1999. 109p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)-Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Botucatu, SP.

CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; ALLARD, R.W. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. **Genetics**, Baltimore, v.89, p. 765-792, 1978.

COCKERHAM, C.C. Variance of Gene Frequencies. **Evolution**, Washington, v. 23, n.1, p. 72-84, Mar. 1969.

COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of Gene Flow From F-Statistics. **Evolution**, v.47, n.3, p.855-863, June 1993.

COLLEVATTI, R.G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J.D. Population genetic structure of *C. brasiliense*. **Molecular Ecology**, v.10, p.349-356, 2001

COSTA NETO, F. **Subsídios técnicos para um plano de manejo sustentado em áreas de cerrado.** Viçosa: UFV. 1990. 142p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CRAWLEY, M.J. **Plant ecology.** Oxford: Blackwell Scientific, 1986. 496p.

CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for poligenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the Natural Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, p. 6073-6077, 1984.

CROW, J. F.; KIMURA, M. A. **An introduction to population genetics theory**. New York: Harper & Row, 1970. 591p.

CUNHA, A.S. et al. **Uma avaliação da sustentabilidade da agricultura nos cerrados**. IPEA/PNUD. 1994.

DEWEY, S.E.; HEYWOOD, J.S. Spatial Genetic Estruture in a Population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of Genotypes. **Evolution**, v.42, p.834-838, 1988.

DINIZ-FILHO, J. A. F. **Análise de autocorrelação espacial: inferências microevolutivas e aplicações em genética de populações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1998. p. 83-145. (Série Monografias, 6).

DOMBROSKI, J.L.D. **Estudos sobre propagação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1997. 78p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DUTRA, R. de C. Fenologia de dez espécies arbóreas nativas do cerrado de Brasília-DF. **Brasil Florestal**, Rio de Janeiro, v.62, p.23-41, out./dez. 1987.

EGUIARTE, L. E.; PEREZ-NASSER, N.; PIÑERO, D. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocarium mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. **Heredity**, Oxford, v. 69, n. 3, p. 217-228, Sept. 1992.

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

ELLSTRAND, N. C.; ELIAM, D. R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Ann.Ver. Ecol. Syst.**, v.24, p. 217-242, 1993.

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

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

FISHER, R.A. Average excess and average effect of a gene substitution. **Annals of Eugenics**, v. 11, p.53-63, 1941.

FONSECA, A..G. da; MUNIZ, I.A. de F. Informações sobre a cultura de espécies frutíferas nativas da região de cerrado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.173, mar./abr.1992.

FRANCO, G. Composição química dos alimentos e valor energéticos. In: _____. **Nutrição: texto básico e tabela de composição química dos alimentos**. 6.ed. Rio de Janeiro. ATHENEU, 1982. p.180-193.

FRANKEL, O. H. The place of management in conservation. In: SCHOENWALD-COX, C.M. et. al. (Ed.). **Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations**. Menlo Park, California: The Benjamin/Cumming, 1983. p.1-14.

FUTUYMA, D.J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 631p.

GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae)**. 1996. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências)Universidade de Campinas, Campinas.

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

GRIBEL, R.; HAY, J.D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) in Central Brazil cerrado vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, New York, v.9, n.2, p.199-211, May 1993.

GIUDICE-NETO, J. del. **Estrutura genética por isoenzimas em populações naturais de Jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.)** 1999. 128p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 1990. 468p.

HAMRICK, J.L. Isozymes and analysis of genetic structure in plant populations. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P. (Ed.). **Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations**. Chapman and Hall, 1989. p.87-105.

HAMRICK J.L.; MURAWSKI, D.A.; NASON, J.D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetation**, v.107/108, p.281-297, 1993.

HAMRICK J.L.; GODT, M.T. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A.H.D. et al. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 1990, p. 43-63.

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

HUNTER, R.L.; MARKET, C.L., Histochemical demonstration of enzymes separated by zone eletrophoresis in starch gels. **Science**, v.125, p.1294-1295, 1957.

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

JUMMARS, P.A.; THISTLE, D.; JONES, M.L. Detecting two-dimensional spatial structure in biological data. **Oecologia**, v.28, p.109-123, 1977

KEPHART, S.R. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. **American Journal of Botany**, v.77, n.5, p. 693-712. 1990.

KIMURA, M.; WEISS, G. The stepping-stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. **Genetics**. v. 49, p. 561-576, 1964.

LABORIAU, L.F.G. Sobre a formação de novos biólogos de plantas no Brasil. **O Biológico**, São Paulo, v.32, n.6, p.113-121, 1966.

LACERDA, C. M. B. de. **Diversidade genética por isoenzimas em populações naturais de aroeira (*Myracrodouon urundeva* Freire, F. & M. F. Allemão) Anacardeaceae no semi-árido**. 1997. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LANDE, R. Genetic and demography in biological conservation. **Science**, Washington, v. 241, n. 4872, p. 1455-1460, Sept. 1988.

LEPSH-CUNHA, N. **Estrutura genética e fenologia de espécies raras de *Couratari* spp. (Lecythidaceae) na Amazônia**. 1996. 147p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, v. 74, n.6, p. 1659-1673, 1993.

LISBOA, O. O pequizeiro. **Boletim de Agricultura Zootecnia e Veterinária**, Belo Horizonte, v.416, p.51-55, abr./jun.1930.

LEVIN, D.A.; KERSTER, H.W. Gene flow in seed plants. **Evolutionary Biology**, v.7, p. 139-220, 1974.

LEWIS, P.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis**. Versão 1.0 para Windows 3.1 1999.

LOVELESS, M.D. e 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.

MALTEZ, H. M. **Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Müell. Arg - Apocynaceae (peroba-rosa) em uma floresta estacional semidecidual no Estado de São Paulo**. 1997. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Universidade de Campinas, Campinas, SP.

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).

MARKET, C.L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes; tissue, ontogenetic, and species specific patterns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 45, p. 753-763, 1959.

MIRANDA, J. de S. **Contribuição ao estudo da cultura do piqui (*Caryocar* sp.): propagação e concentração de nutrientes**. 1986. 103p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)-Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

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.

METTER, I.E; GREGG, T.G. **Genética de populações e evolução**. São Paulo: USP/Polígono, 1973. 262p.

MONTOVANI, J.E; PEREIRA, A. **Estimativa da integridade da cobertura vegetal de cerrado através de dados TM/Landsat**. São José dos Campos-SP: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 1998. (No prelo).

MORAES, P.L.R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees e *Martius Ex Nees* (Lauraceae)**. 1997. 190p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/ Biologia Vegetal)-Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.

MORAN, G. F.; HOPPER, S.D. Conservation of the genetic resources of rare and widespread eucalyptus in remnant vegetation. In: SANDERS, D.A. et al. (Ed.). **Nature conservation: the role of remnants of native vegetation**. Chipping Norton: Surrey, Beaty and Sons, 1987. 410p.

MURAWSKI, D. A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K. S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lanka tropical rain forest. **Biotropica**, St. Louis, v. 26, n. 1, p. 23-29, Mar. 1994.

MURAWSKI, D. A. et al. Mating systems of two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. **Oecologia**, New York, v. 82, n. 4, p. 501-506, 1991.

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.

NEI, M. F. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annal of Human Genetics**, New York, v. 41, p. 225-233, Oct. 1977.

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

OLIVEIRA, A. F. **Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas**. 2000. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

O'MALLEY, D. M.; BAWA, K. S. Mating system of a tropical rain forest tree species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 74, n. 8, p. 1143-1149, Aug. 1987.

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. p.195-226.

PÓVOA, J.S.R. **Distribuição da variabilidade genética de *Cedrela fissilis* Vell., em fragmentos florestais, no sul de Minas Gerais, por meio de isoenzimas**. 95p. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestais)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis*)**. 1996. 209p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

RIBEIRO, R.F. **Pequi o rei do cerrado**. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/ CAA-NM/Campo Vale, 2000.

RIBEIRO, J.F.; PROENÇA, C.E.B.; ALMEIDA, S.P. Potencial frutífero de algumas espécies nativas do cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA-DDT/CNPq. 1986. v.2, p.491-500.

RICKLEFS, R.E. Estrutura populacional. In: _____. **A economia da natureza**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996. p.199-213.

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

ROBINSON, L.P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 329-380.

SEBBENN, A.M. **Distribuição da variação genética de populações de jequitibá-rosa [*Cariniana legalis* (Mart.) O.Ktze] por caracteres quantitativos e isoenzimas**. 2001. 210p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEBBENN, A.M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar a partir de isoenzimas**, 1997. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SENA, A. O grito do pequizeiro. **O Estado de Minas**, Belo Horizonte, 30 nov. 1985. Caderno Agropecuário, p-5.

SHAPCOTT, A. The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). **Heredity**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 28-38, Jan. 1995.

SILVA, C.E.M. **Cerrado e camponeses no norte de Minas: um estudo sobre a sustentabilidade dos ecossistemas e das populações sertanejas**. 1999. 242p. Dissertação (Mestrado)Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 7, p. 1349-1368. Nov. 1989.

SLATKIN, M. Gene flow in nature populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 16, p. 393-430, 1985.

SNAYDON, R.W. Population responses to environmental disturbance. In: ANDEL, J. van, et al. (Ed.). **Disturbance in grasslands**. Dordrecht: Dr. W. Junk, 1987. p. 15-31.

SOKAL, R. R.; ODEN, N. L. Spacial autocorrelation in biology. I. methodology. **Biology Journal Linn. Society**, v.10 p.199-228, 1978.

SOKAL, R. R.; WARTENBERG, D.E. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. **Genetics**, v. 105, n. 1, p. 219-237, 1983.

SOLFERINI, V.N.; SELIVON, D.: Polimorfismos de isozimas. In: MATIOLI, S.R. (Ed.). **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p.137-142.

SOULÉ, M. E.; KOLM, K. A. **Research priorities for conservation biology**. (, Washington: Island, 1989. (Critical Issues Series).

SOUZA, L. M. F. I. de. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP) - Brasil**. 1997. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SWOFORD, D.L.; SELANDER R.B. BIOSYS-1. A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. **Journal of Hered**, v.72, p. 282-283, 1989.

TORGGLER, M.G. F.; CONTEL, E.P.B.; TORGLER, S.P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186p.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, abr. 1987.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**. Rio de Janeiro v.15, p.53-60. 1992.Suplemento. (CONGRESSO LATINO AMERICANO DE GENÉTICA. 10..1992)

VILELA, G. F. **Variações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Cariocaraceae):** fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de frutos. 1998. 88p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

WEEDEN, N.F.; WENDEL, J.F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P.S. (Ed.). *Isozymes in plant biology*. Portland: Dioscorides, 1989. p.5-45.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data.** Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1990. 377 p.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II: Methods for discrete population genetic data.** Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1996. 445p.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, v.16. p.97-159, 1931.

WRIGHT, S. Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist*, v.74. 232-248, 1940.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, v.15, p. 323-354, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, v.19, 395-420, 1965.

WWF Brasil. **Expansão agrícola e perda de biodiversidade no cerrado: origens históricas e o papel do comércio internacional.** Brasília, 2000. 104p.

YOUNG, A.; BOYLE, T. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOYLE, T.; BOSHIER, D. (Ed.). **Forest conservation genetics.** Melbourne: CISRO, 2000. p.123-132.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetics consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, Oxford, v. 11, n. 10, p. 413-418, Oct. 1996.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 2.ed. New Jersey: Englewood Cliffs, 1984. 718p.

