

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.
A PARTIR DE ISOENZIMAS**

ALESSANDRO FABIANO DE OLIVEIRA

2000

3. 1940-1941

1941

1942

1943

1944

1945

1946

1947

1948

1949

1950

1951

1952

1953

1954

1955

50303
35429

ALESSANDRO FABIANO DE OLIVEIRA

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.
A PARTIR 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

Prof.^a Dulcinéia de Carvalho

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2000**

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

Oliveira, Alessandro Fabiano de

Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera Langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas / Alessandro Fabiano de Oliveira. -- Lavras: UFLA, 2000.

114 p. : il.

Orientadora: Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Óleo copaiba. 2. Isoenzima. 3. Eletroforese. 4. Estrutura genética. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.97332

ALESSANDRO FABIANO DE OLIVEIRA

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Copaifera langsdorffii* Desf.
A PARTIR 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 04 de agosto de 2000

Pesq. Alexandre Magno Sebbenn

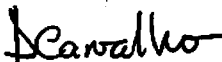
ESALQ – USP

Prof. Paulo Yoshio Kageyama

ESALQ – USP

Prof. Eduardo Bearzoti

UFLA



Prof.^a Dulcinéia de Carvalho - UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2000

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho, tanto por seu tempo, disposição, profissionalismo, apoio e amizade nesta importante etapa de minha vida.

A DEUS por sua presença constante em minha vida e por permitir a concretização de mais um desafio;

À Universidade Federal de Lavras – UFLA;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); à Companhia Mineira de Metais (CMM) e à Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais (FIEMG) pela concessão de bolsa através do convênio FAPEMIG-FIEMG;

Ao PROBIO pelo apoio financeiro ao projeto “Estratégias para conservação e manejo da biodiversidade em fragmentos de florestas semidecíduas”;

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Florestais – UFLA;

À Prof^a. Dulcinéia de Carvalho, orientadora e amiga;

Ao Prof. Sebastião Carlos da Silva Rosado pela oportunidade, apoio e inestimável amizade ao longo desses anos;

A Alexandre Magno Sebbenn (ESALQ-USP) pela fundamental colaboração nas análises dos dados e preciosas sugestões;

Ao Prof. Paulo Yoshio Kageyama (ESALQ-USP) pela importante contribuição;

Ao Prof. Eduardo Bearzoti (DEX-UFLA) pela colaboração e sugestões;

A todos os integrantes do laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular, em especial a Anderson, Piqueno, Sheila, Cenir, Vássia, Juliana, Nilza, Eduardo, Tiago, Márcia e Karem;

Aos funcionários do Viveiro Florestal DCF – UFLA, em especial a Zé Pedro, Zé Carlos e Sr. Geraldinho.

Aos amigos do Curso de Pós-graduação: Samurai, Cubatão, Kaila, Luciana Magda, Rinã, Josina, Clair, Érika, Álvaro, José Caixeta (*in memorian*) e Ronaldinho;

Aos camaradas de república: Rubens, Denis e Márcio; Aos meus fiéis companheiros: Sacha e Dask (*in memorian*);

A D. Arlete e família pela acolhida e paciência ao longo desses anos;

Aos amigos da cidade de Lavras: Miguel, Takashi, Lurdinha, Divino, Tê, e à amável Denise, que surgiu em minha vida num momento muito especial;

Aos parentes e familiares: José Francisco, Maria José e família; aos meus tios Loro e Roberto (*in memorian*) e Jaine.

A vocês, muito obrigado.

Sumário

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 A Espécie <i>Copaifera langsdorffii</i> . Desf.....	3
2.2 Fragmentação das florestas tropicais e perda da biodiversidade.....	10
2.3 Marcadores genéticos para estudos de genética de populações.....	12
2.4 Variabilidade genética.....	15
2.5 Estrutura genética de populações.....	18
2.6 Fluxo gênico e tamanho de vizinhança.....	21
2.7 Sistema reprodutivo.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 MATERIAL.....	40
3.1.1 Caracterização dos locais de estudo.....	40
3.2 MÉTODOS.....	46
3.2.1 Amostragem dos indivíduos, coleta e transporte das amostras.....	46
3.2.2 Procedimentos de eletroforese de isoenzimas.....	47
3.2.3 Interpretação dos zimogramas.....	49
3.2.4 Análise dos dados.....	50
3.2.4.1 Frequências alélicas.....	50
3.2.4.2 Variação genética intrapopulacional.....	50
3.2.5 Estrutura genética.....	53
3.2.6 Sistema reprodutivo.....	57
3.2.6.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	58
3.2.6.2 Taxa de cruzamento.....	58
3.2.7 Fluxo gênico.....	59
3.2.8 Tamanho efetivo.....	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1 Sistemas enzimáticos.....	62
4.2 Frequências alélicas.....	66
4.3 Estrutura genética.....	70
4.4 Variabilidade genética intrapopulacional.....	76
4.5 Sistema reprodutivo.....	82
4.5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	82
4.5.2 Taxa de cruzamento multilocos, unilocos e de autofecundação.....	84
4.6 Fluxo gênico.....	87
4.7 Tamanho efetivo.....	90
5. CONCLUSÕES.....	94
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas. Lavras: UFLA, 2000. 114p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia Florestal)¹

Três populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf., espécie arbórea comumente encontrada no Brasil, foram estudadas por meio da eletroforese de isoenzimas, visando determinar os níveis de variabilidade genética mantidos dentro e entre as populações, sua estrutura genética, a taxa de cruzamento, o fluxo gênico, o sistema reprodutivo e o tamanho efetivo das populações. As populações amostradas localizam-se no município de Lavras, sul de Minas Gerais, sendo que duas (Cerrado e Mata Semidecidual) estão localizadas no campus da Universidade Federal de Lavras – UFLA e a terceira (Mata Ciliar) em uma área de preservação permanente, entre os municípios de Lavras e Itumirim. Foram amostrados tecidos foliares de 20 indivíduos de cada população e analisaram-se 400 indivíduos jovens (progênes) procedentes de sementes coletadas de 20 matrizes na população da Mata Ciliar. Foram testados 21 sistemas enzimáticos e escolhidos os 5 melhores, revelando 35 alelos totais distribuídos em 12 locos. O polimorfismo (P) com limite de frequência igual ou inferior a 0,95 variou entre 72,73% a 87,50% entre as populações. O número médio de alelos por loco (A) variou entre 2,2 a 2,5 e a diversidade genética medida pela heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) variou entre 0,368 e 0,435. A estrutura genética revelou que há endogamia para o conjunto das populações adultas ($\hat{F} = 0,130$) e uma tendência de excesso de heterozigotos para as progênes ($\hat{F} = -0,033$). Os pares de populações Cerrado-Mata Ciliar e Mata Semidecidual-Mata Ciliar apresentaram altos valores de $\hat{\theta}_p$ (0,142 e 0,162), comparando com o par Cerrado-Mata Semidecidual (0,073). A taxa de cruzamento multilocos média foi alta ($\hat{t}_m = 0,917$), indicando que a espécie é de reprodução mista predominantemente alógama. O fluxo gênico medido pelo número de migrantes (\hat{N}_m) foi baixo, variando de 0,79 entre as populações Cerrado-Mata Semidecidual, 0,38 entre Cerrado-Mata Ciliar, 0,32 entre Mata Semidecidual-Mata Ciliar e 0,41 para o conjunto das três populações. A área mínima estimada para a conservação *in situ* de uma população foi de 8,3 ha.

¹ Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Orientadora), Sebastião Carlos da Silva Rosado – UFLA e Marco Aurélio Leite Fontes – UFLA.

ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Genetic structure of natural populations of *Copaifera langsdorffii* Desf. starting from isoenzyme. Lavras: UFLA, 2000. 114p. (Dissertation - Master Program in Forest Engineering)¹.

Three natural populations of *Copaifera langsdorffii* Desf. were studied by isoenzyme electrophoresis to determine the levels of genetic variability, genetic structure, crossing rate, gene flow, reproductive system and the effective size of the populations. The populations are located in the county of Lavras, located in the south of the state of Minas Gerais, being represented by three types of vegetation (Cerrado, Riparian Forest and Semideciduous Forest). Samples of leaf tissue were taken from 20 adult plants from each population and from 400 progenies for isoenzyme electrophoresis analysis. Five enzymatic systems were evaluated in adults (24 alleles average) and progenies (29 alleles total). The proportion of polymorphic loci (0,95) among populations was 72,73% to 87,50%. The average number of alleles per locus was 2,2 to 2,5 and the expected heterozygosity (\hat{H}_e) was 0,368 to 0,435. The estimated data revealed inbreeding for the adult populations ($\hat{F} = 0,130$) and excess of heterozigotes for the progenies ($\hat{F} = -0,033$). The genetic diversity index for the populations was 0,142 for the Cerrado-Riparian Forest, 0,162 for the Riparian Semideciduous Forest, and 0,073 for the Cerrado-Semideciduous Forest. The average multilocus outcrossing rate was high ($\hat{t}_m = 0,917$), indicating that the species is predominantly allogamous. The gene flow, elatuated by the number of migrants (\hat{N}_m), was 0,79 for Cerrado-Semideciduous Forest, 0,38 for Cerrado-Riparian Forest, 0,32 for Riparian-Semideciduous Forest and 0,41 for all populations analysed. The population from Riparian Forest has relatively high genetic variation making this population of *C. langsdorffii* a valuable source for genetic conservation. The minimum area size estimated for the *in situ* conservation of this population is 8,3 ha.

¹Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Sebastião Carlos da Silva Rosado - UFLA and Marco Aurélio Leite Fontes - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A exploração inadequada dos recursos naturais vêm provocando a extinção de um grande número de espécies nos diferentes biomas do planeta, especialmente naqueles situados nos trópicos. Entre as várias causas dessas extinções, as mais comuns são a perda e a fragmentação de habitats. Em virtude de tal realidade, existe uma necessidade urgente de estudos genéticos ao nível populacional das espécies que compõem tais ecossistemas, para que sejam estabelecidas estratégias de manejo e conservação genética.

A conservação e o manejo da diversidade biológica nos ecossistemas naturais em processos de fragmentação e a restauração de ecossistemas fragmentados são desafios complexos que requerem conhecimento fundamental sobre a fitossociologia, dinâmica, biologia reprodutiva e a estrutura genética de suas populações. Informações sobre os sistemas de cruzamento, fluxo gênico e os níveis da variabilidade genética entre e dentro de populações são fundamentais para o delineamento de estratégias apropriadas de conservação *in situ* e *ex situ*. O conhecimento da quantidade e distribuição da variabilidade genética nas populações naturais torna-se, portanto, um pré-requisito fundamental para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética. A implementação de estratégias eficazes de conservação *in situ* depende da disponibilidade de conhecimentos genéticos e ecológicos fundamentais a respeito das áreas candidatas a funcionar como reservas genéticas. Sem este conhecimento, o trabalho de conservação genética, por mais bem intencionado que seja, tende a não ser eficiente (Asins e Carbonell, 1987).

Muitas das espécies que compõem os ecossistemas domésticos são importantes devido ao seus valores econômicos e ecológicos; entretanto, sendo impraticável o estudo de um grande número de espécies, é necessário amostrar

aquelas que possam servir de modelo ou que sejam representativas do bioma estudado. Dentre essas, a *Copaifera langsdorffii*, conhecida vulgarmente como Óleo-Copaíba, apresenta-se adequada para estudos genéticos de suas populações por ser uma espécie de ampla distribuição, com grande plasticidade ecológica, dispersão zoocórica e hidrocórica e polinização por abelhas.

Com o intuito de conhecer os níveis de variabilidade genética e de sua distribuição entre e dentro de populações (estrutura genética), pois estes são de grande importância para a adoção de estratégias de manejo mais adequadas para a conservação genética, os objetivos do presente estudo foram: i) quantificar a variabilidade genética, ii) caracterizar a estrutura genética das populações, iii) estudar o sistema reprodutivo, iv) determinar o fluxo gênico inter e intrapopulacional, e v) estimar o tamanho efetivo das populações.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A espécie *Copaifera langsdorffii* Desf.

Copaifera langsdorffii Desf. (Caesalpinaceae) tem como sinonímia botânica *Copaifera grandiflora* (Bentham) Malme e *C. nitida* Hayne (Carvalho, 1994). A espécie é vulgarmente conhecida como óleo copaíba ou simplesmente copaíba.

Ocorrem cerca de 25 a 30 espécies do gênero *Copaifera* L. na América Tropical, sendo *Copaifera langsdorffii* Desf. a de maior ocorrência no Brasil (Carvalho, 1994). Apesar de sua ampla distribuição, esta espécie se encontra atualmente na lista das espécies ameaçadas de extinção, sendo a sua conservação genética feita por populações bases "ex situ" no Estado de São Paulo (Siqueira e Nogueira, 1992).

A espécie tem distribuição natural entre as latitudes 03°S (CE) a 24°50' S (Castro-PR), ocorrendo em países como: Argentina (nordeste), Bolívia (sul), Paraguai (norte). No Brasil, a espécie ocorre nos estados da Bahia (sudeste), Ceará (Serras e litoral), Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais (todo), Mato Grosso do Sul, Mato Grosso (centro-sul), Pernambuco, Piauí (sudeste), Paraíba, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia, São Paulo, Tocantins e Distrito Federal (Carvalho, 1994).

O óleo copaíba é classificado como espécie do grupo das indicadoras acompanhantes (Salvador, 1986). E sob o aspecto da sucessão secundária, é classificado como espécie clímax (Kageyama, Biella e Palermo, 1990). É também muito utilizado para plantio em áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 1992). Frequentemente encontram-se exemplares jovens, principalmente em áreas abertas e na vegetação secundária, em capoeira.

Trata-se de uma espécie com grande plasticidade ecológica, sendo encontrada nas regiões fitoecológicas tais como: o Cerrado e Cerradão; a Caatinga/Mata-Seca (Fernandes, 1992); Campos Gerais e Campos Rupestres ou de altitude, onde sua frequência é rara a ocasional (Carvalho, 1992); Campinarana, em Rondônia; floresta Ombrófilas Densa (Floresta Atlântica); pela mata ciliar pode-se chegar até a Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária), no centro-sul do Paraná; Floresta Estacional Semidecidual; nas formações Aluvial e Montana; encaves vegetacionais no Nordeste (Fernandes, 1992); fora do Brasil, ocorre no Campo Alto Arbóreo, no Paraguai (Lopes *et al.*, 1987).

Dentre as várias utilidades e importâncias da *Copaifera langsdorffii*, tem-se a sua madeira que quando serrada e roliça é muito usada na construção civil, através de vigas, ripas, caibros, marcos de portas e janelas e tábuas em geral; peças torneadas, coronhas de armas, cabos de ferramentas, cabos de vassouras, implementos agrícolas, carrocerias, miolo de portas, marcenaria em geral, móveis inferiores, tabuados em geral, revestimentos, laminação, torneados, folhas para compensados; também é utilizada na construção naval (Carvalho, 1994).

Sua lenha possui uma qualidade regular e a madeira contém alto teor de lignina, sendo muito boa para a produção de álcool, coque e carvão (Paula, 1981). A porcentagem de lignina e cinzas é de 28,57%; assim esta espécie se apresenta inadequada para ser usada na produção de celulose e papel; possui um comprimento médio de fibras de 1,105 mm (Wasjutin, 1958).

A copaiba fornece bálsamo ou óleo de copaiba, extraído por meio de incisões ou perfurações feitas em seu tronco (Figura 1); assim, o óleo flui de forma tão pura que é possível ser utilizado em seu estado natural (sem refinamento); depois de retirado o óleo, fecha-se o orifício usando um pedaço de

madeira. Este processo não agride a copaibeira, permitindo que ela continue produzindo essa importante resina (Carvalho, 1994).

O óleo de copaíba foi usado como combustível caseiro e em barcos a motor. Possui peso molecular semelhante ao óleo diesel, sendo que o uso em motores diesel demonstrou resultados positivos (Nascimento, 1980), mas, sob esse aspecto, acredita-se ser sua produção inviável em termos comerciais.

Pawlett (1980) afirma que uma árvore de copaíba pode produzir até 5 galões de óleo em duas ou três horas ou até 50 litros de bálsamo. O óleo também é muito utilizado pela indústria de cosméticos, plásticos e aditivos para resina, tintas e vernizes.

Na região noroeste da Amazônia, onde se localiza o Rio Solimões, a resina de Copaíba é usada nas tribos indígenas como um cicatrizante, para chagas de pele e psoríase e no tratamento da gonorréia. A medicina tradicional no Brasil recomenda que o óleo de Copaíba seja usado atualmente como agente anti-inflamatório, para tratamento de caspa e em todos os tipos de distúrbios de pele e úlceras de estômago; cicatrizante (tratamento de ferimentos); balsâmica (tratamento da asma e tratamento de moléstias pulmonares) e purgativa (Barros, 1982). Brandão (1991) descreve também que o óleo-de-copaíba é usado em infusão para curar resfriados.

O óleo-de-copaíba é retirado da planta perfurando-se o seu tronco; juntamente com a casca, misturado à cachaça por um período de uma semana, pode ser utilizado no tratamento de bronquites rebeldes (Gavilanes e Brandão, 1992).

A espécie caracteriza-se por apresentar altura média de 5 a 15 m e 20 cm a 60 cm de DAP, podendo atingir 35 metros de altura e 100 cm de DAP (Carvalho, 1994). No Cerrado e na Caatinga apresenta porte menor, 3 a 10 m de altura, e nos Campos Rupestres da Serra da Bocaina, em Minas Gerais, tem porte arbustivo com 1,20 m de altura (Carvalho, 1992). O tronco é cilíndrico,

tortuoso e curto, e normalmente o fuste atinge até 12 m de altura (Carvalho, 1994). As folhas são compostas, alternas, paripenadas, com até 6 pares de folíolos, com 2 a 4,5 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura, com pecíolo de 1 a 1,5 cm de comprimento e glanduloso, e suas flores são zigomorfas, apétalas, com quatro sépalas livres, brancas-amareladas a creme-rosada, de 4 a 6 mm de comprimento ou 8 mm de diâmetro quando perfeitamente abertas, perfumadas e efêmeras, dispostas em panículas terminais que recobrem quase toda a copa, com até 10 cm de comprimento, contendo 5 a 35 flores (Carvalho, 1994).

Sua floração ocorre entre os meses de outubro a julho: de outubro a abril em São Paulo, de novembro a janeiro em Minas Gerais, de dezembro a janeiro em Goiás e no Distrito Federal, de janeiro a março no Paraná, de março a abril no Rio de Janeiro e de junho a julho no Ceará e em Pernambuco. Em São Paulo, seu florescimento não é anual (Crestana, 1989).

Seus frutos apresentam-se maduros de junho à outubro: de junho a agosto no Distrito Federal e no Espírito Santo, em julho em Minas Gerais, de julho a setembro no Paraná, de agosto a Setembro no Rio de Janeiro e de agosto a outubro em São Paulo. A floração e a frutificação iniciam gradativamente a partir dos cinco anos de idade, em plantios (Carvalho, 1994).

A dispersão das sementes de copaíba é feita basicamente por aves (zoocórica), tais como o tucano (*Ramphastos toco*, Rhamphastidae), a gralha-do-campo (*Cyanocorax cristatellus*, Corvidae) e o sabiá, que engole o arilo e regurgita a semente (Motta Junior e Lombardi, 1990). As sementes podem também ser dispersas pelas águas dos rios (hidrocóricas) devido à sua ocorrência junto aos cursos de água.

O ponto recomendado para a colheita das sementes de copaíba é quando as mesmas apresentam coloração marrom-escura, ocasião em que se observa menor conteúdo de cumarina nas sementes. Os frutos podem ser coletados com coloração verde, com posterior amadurecimento durante a armazenagem

(Barbosa, Aguiar e Santos, 1992; Borges e Borges, 1979). A extração da semente do fruto é feita manualmente, devendo-se extrair o arilo e depois colocar as sementes para secar. Estima-se que o número de sementes por quilo é de 1720 (Lorenzi, 1992) a 3.000 (Pásztor, 1962). As sementes apresentam dormência ocasional, causada pela deposição de cumarina no tegumento, fato que inibe a germinação, necessitando de tratamento pré-germinativo, entre os quais : a) imersão em água fria à temperatura ambiente por 18 a 72 horas; b) imersão em ácido sulfúrico concentrado por 5 a 15 minutos (Capelanes, 1991); c) estratificação em areia úmida por 15 dias (Camargo, Bueno e Rosado, 1988); e d) imersão em éter por 20 minutos (Perez e Prado, 1993). Para se conseguir uma boa porcentagem de germinação, deve-se submeter as sementes de copaíba a uma lavagem, isto é, colocando-as em recipiente com água durante um período que pode durar até 72 horas ou mais, tendo o cuidado de trocar a água de uma a duas vezes em 24 horas (Duarte, 1979). Ao fim deste tempo, as testas das sementes entumecidas se rompem; nesse momento, as sementes estão aptas para serem semeadas. Sementes não tratadas germinam de 12% a 59%, enquanto, com tratamento, a faculdade germinativa já atingiu até 81% (Borges *et al.*, 1982). Todavia, cumpre observar que sementes contendo cumarina – como *Copaifera langsdorffii* – germinam magnificamente; durante o processo germinativo, percebe-se o odor da cumarina que se difunde no meio (Rizzini, 1976).

As sementes da copaíba são ortodoxas e podem ser conservadas a longo prazo. Sementes armazenadas em câmara seca ($T=10^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}=30\%$) ainda mantinham alta viabilidade e vigor após 4 anos (Eira *et al.*, 1992).

A madeira é moderadamente pesada (densidade 0,64 a $0,86\text{ g/cm}^3$) a 15% de umidade (Pereira e Mainieri, 1957). Sua superfície é lisa ao tato e lustrosa, textura média e uniforme, grã direita ou irregular, possui resistência mecânica média e durabilidade natural, sendo uma madeira de alta resistência ao

ataque de organismos xilófagos; quando submetida a tratamentos sob pressão, apresenta uma baixa permeabilidade às soluções preservantes. Esta madeira está sujeita ao empenamento e possui forte tendência ao rachamento; o preço de mercado da madeira serrada em Linhares-ES é de US\$ 350,00 por metro cúbico (Jesus, Garcia e Tsutsumi, 1992).

Kuhlmann e Kuhn (1947) e Crestana (1989) descrevem que a copaíba é também uma planta apícola e suas flores apresentam néctar e produzem grande quantidade de pólen.

Os prováveis polinizadores de copaíba são as abelhas (*Apis mellifera*) embora Hamrick e Murawski (1990) tenham relatado que a polinização indireta por abelhas pode alcançar a distância de 750 m em espécies arbóreas. Existem citações de que *Apis mellifera* pode voar aproximadamente 21-24 km em busca de néctar (Crane, 1985) e podem percorrer um raio de 10 km ao encontro de uma rainha (Wiese, 1985).

As sementes são geralmente predadas por aves da família Thraupidae (Motta Junior e Lombardi, 1990). Quanto ao reflorestamento ambiental, a espécie é recomendada para reposição de mata ciliar para locais com inundações periódicas de média a longa duração. É também indicada para plantio em áreas com o solo permanentemente encharcado (Torres *et al.*, 1992).

A copaíba é encontrada a uma altitude que pode variar de 50 m a 1.600 m, com precipitações médias anuais de 750 mm a 2.000 mm, temperatura média anual de 17°C a 28°C, temperatura média no mês mais frio de 13°C a 23°C e temperatura média no mês mais quente de 21°C a 30°C. O tipos climáticos (Köppen) são: Af, Aw, Cfa, Cfb, Cwa e Cwb. A copaíba é uma espécie plástica quanto às condições edáficas, ocorrendo esporadicamente em solo Gley pouco húmico. Prefere solos com drenagem boa e regular e com textura arenosa a argilosa (Carvalho, 1994).

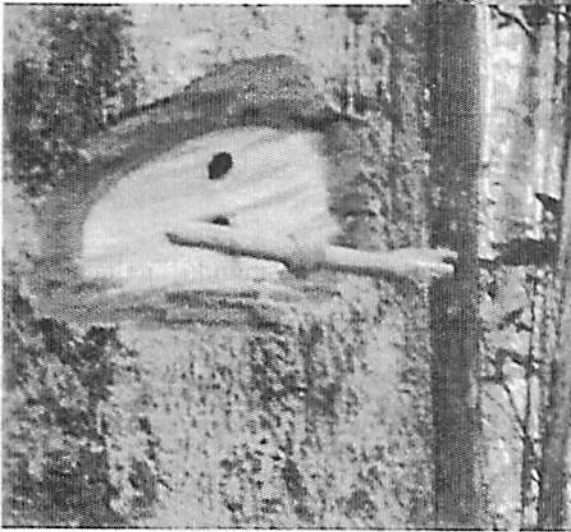
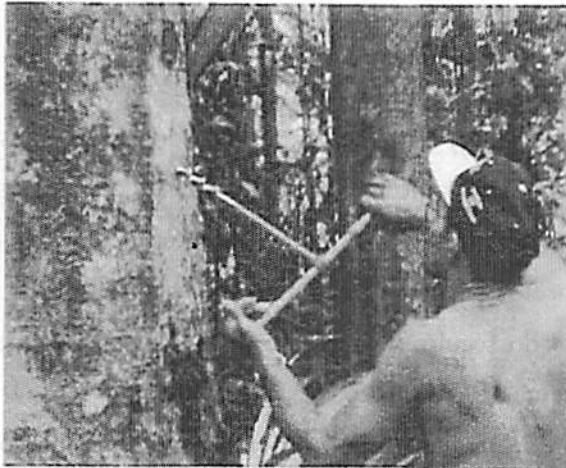


FIGURA 1. Extração do óleo de copaíba por meio de incisões ou perfurações feitas no tronco da árvore.

2.2 Fragmentação das florestas tropicais e perda da biodiversidade

A rápida redução na área ocupada pelas florestas tropicais úmidas ao redor do mundo desde o início deste século tem acarretado taxas alarmantes de perda de biodiversidade. Simberloff (1986) estima que, com as taxas atuais de desmatamento, as 92.000 espécies de plantas das florestas neotropicais serão reduzidas a 13.594 até o final do século 20 e que, com taxas potencialmente mais altas de desmatamento, cerca de 60.000 espécies desaparecerão.

A expansão da população humana e suas atividades têm resultado na destruição, degradação e fragmentação dos habitats a tal ponto que este processo é agora a maior causa do declínio da biodiversidade (Ehrlich, 1988). 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. Este processo pode levar a perdas da biodiversidade e mudanças na distribuição e abundância de microorganismos. Desta maneira, a fragmentação da floresta pode influenciar os padrões locais e regionais de biodiversidade devido à perda de micro-habitats únicos, à insularização do habitat e às mudanças associadas aos padrões de dispersão e migração (Soulé e Kohm, 1989).

A maioria das regiões de floresta tropical do mundo fatalmente estará sujeita ao processo de desenvolvimento nas próximas décadas, deixando um mosaico de fragmentos florestais cujas áreas variarão em diversas ordens de magnitude (Bierregaard *et al.*, 1992). Geralmente, após a ocupação da paisagem, são deixados somente fragmentos espalhados e isolados, sendo a maioria deles pequenos, gravemente perturbados e localizados em áreas de baixa aptidão agropecuária (áreas de topografia acidentada, solos pobres, drenagem deficiente, etc.).

Diante desta realidade, as estratégias para a conservação devem contemplar grandes reservas. Entretanto, áreas em que a destruição do habitat tem sido tão extensa que grandes reservas não são mais possíveis, as reservas pequenas podem complementar redes locais ou regionais de reservas, preferencialmente dentro de uma perspectiva de metapopulação. A compreensão dos padrões e processos ecológicos ocorrendo nos fragmentos florestais é crucial para o manejo e conservação da biodiversidade neles contida. Este conhecimento auxiliará na determinação do papel desempenhado pelos fragmentos florestais de distintos tamanhos em uma rede de reservas e contribuirá para o desenho, planejamento e manejo das reservas.

Dois pontos principais devem ser considerados quando se avalia a capacidade de uma espécie nativa sobreviver em determinada reserva. Em primeiro lugar, cada espécie tem um tamanho de população mínimo viável que é necessário para cruzamentos, para produzir descendências geneticamente variáveis (para espécies de reprodução cruzada), para sobreviver a flutuações aleatórias no tamanho, e para produzir novas populações colonizadoras a longo prazo. Populações isoladas, abaixo do tamanho mínimo, provavelmente não persistirão (Boecklen e Simberloff, 1986). Em segundo lugar, populações pequenas e isoladas tendem a possuir níveis mais baixos de heterozigose que populações grandes e extensas (Soulé, 1983; Ellstrand e Elam, 1993). Populações que sofreram estrangulamentos genéticos têm maiores probabilidades de sofrer redução na heterozigose, o que pode diminuir sua capacidade de adaptar-se às mudanças de condições ambientais (Barrett e Kohn, 1991). Consequentemente, as estimativas do tamanho mínimo da área, necessária para a persistência a longo prazo das espécies, devem incluir suficiente espaço físico para minimizar a probabilidade de ocorrerem estrangulamentos genéticos. Esta área mínima dependerá da densidade populacional da espécie-alvo, de forma que o tamanho mínimo necessário da

reserva para a persistência da espécie provavelmente diferirá grandemente entre *taxa*.

Muitas espécies podem ter populações muito pequenas para serem viáveis a longo prazo e numerosas espécies, ainda presentes nos fragmentos, podem estar fadadas à extinção (Magsalay, Dutson e Timmis, 1995). Muitas espécies de árvores vivem por séculos, e o que se observa atualmente pode simplesmente ser um efeito de retardamento antes da extinção. Entretanto, a sobrevivência da espécie depende grandemente da erosão da diversidade genética que ocorre quando o tamanho populacional decai, o que evidencia que este deve ser o principal foco de atenção para a conservação (Heywood *et al.*, 1994). De fato, estima-se que nas florestas tropicais a taxa de extinção de populações é três a oito vezes maior que a de extinção de espécies (Hughes, Daily e Ehrlich, 1997). Diante de tal realidade, tornam-se imprescindíveis os estudos de estrutura genética de populações em espécies de ambientes fragmentados, para que sejam estabelecidas populações-base para conservação genética *in situ*.

2.3 Marcadores genéticos para estudos de genética de populações

Marcadores genéticos são características qualitativas com herança mendeliana simples, facilmente reconhecidas e 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 da análise do polimorfismo presente no próprio DNA (Robison, 1998).

O avanço no melhoramento genético vegetal tem se baseado, desde o início, somente na análise dos fenótipos. Fatores genéticos, influência do ambiente e o tempo necessário para a avaliação fenotípica em culturas perenes

freqüentemente limitam a eficiência desta análise. A identificação direta de genótipos, além de superar as dificuldades da análise fenotípica, pode fornecer informação molecular útil na análise da diversidade genética em germoplasma não domesticado e facilitar o monitoramento e a ampliação da base genética de populações em melhoramento (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Espécies arbóreas possuem alta variabilidade genética, que fornece a base para a seleção e cruzamentos em programas de melhoramento florestal (Forrest, 1994). Visando analisar esta variabilidade genética, muitas técnicas têm sido utilizadas, tais como a dos marcadores isoenzimáticos e marcadores de DNA.

As isoenzimas são proteínas que, por sua vez, 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 à eletroforese. A seguir, os géis são removidos das placas (gel de poliacrilamida) ou fatiados (gel de amido) e revelados, visando a presença de enzimas específicas. Para enzimas, os géis são incubados em soluções específicas contendo os componentes (substrato, coenzimas, solução-tampão e sais) necessários para a revelação das bandas de atividade enzimática (Weeden e Wendel, 1990; Alfenas, 1998).

As isoenzimas, na definição original de Markert e Moller (1959), são formas diferentes de uma mesma enzima que ocorrem num mesmo organismo com afinidade por um mesmo substrato (funções idênticas ou similares). As isoenzimas são controladas geneticamente por um ou vários genes, situados num mesmo loco ou em locos diferentes, respectivamente (Scandalios, 1969).

Quando representam a expressão fenotípica de alelos situados num mesmo loco, são denominadas aloenzimas (Gottlieb, 1971).

A variabilidade dos padrões isoenzimáticos de uma população é geralmente atribuída à segregação genética e designada polimorfismo. Um loco é considerado polimórfico quando a frequência do alelo mais comum não ultrapassa 0,95 (outro critério estabelece esse limite em 0,99). Para determinar essa medida de polimorfismo, é importante que sejam testadas várias enzimas e que se trabalhe com amostras numericamente representativas. As isoenzimas/aloenzimas constituem uma importante fonte de marcadores genéticos, que podem ser empregados em vários programas experimentais teóricos e práticos (Alfenas, 1998).

A análise de isoenzimas tem se expandido em pesquisas de genética florestal. As principais aplicações de técnicas eletroforéticas têm sido em padrões de variação genética (Lundkvist e Rudin, 1977) e em sistemas de cruzamentos (Brown, Matheson e Eldridge, 1975; Shaw e Brown, 1982). Estas aplicações aumentam o conhecimento da estrutura genética em povoamentos naturais, aumentando a eficiência do melhoramento e esforços de conservação de genes de árvores ameaçadas de extinção.

Testes de procedências e progênies e análises biométricas de características fenotípicas têm sido os métodos tradicionais para estudar a variabilidade genética em populações florestais, mas apresentam a desvantagem do tempo requerido para as análises genéticas.

Para estudos populacionais, as isoenzimas possibilitam comparações entre indivíduos e populações com base em vários locos gênicos, ao invés de apenas um ou dois. Além disso, se a análise é acompanhada pela investigação das progênies dos organismos analisados, as razões da segregação mendeliana podem ser obtidas sem a dificuldade de se isolar os pais e fazer cruzamentos (Stebbins, 1990).

O conhecimento dos aspectos relacionados à produção, dispersão e germinação de sementes, além da fisiologia do desenvolvimento das espécies, é fundamental quando se procura compreender a distribuição e o comportamento destas espécies dentro de uma população. A maioria das espécies arbóreas tropicais apresentam um ciclo vegetativo longo e não existe tecnologia silvicultural que permita o cultivo adequado de árvores para constituir os testes genéticos "clássicos" (procedência e teste de progênies). Por estas razões, torna-se necessário desenvolver estudos na área de genética molecular para conhecer, de uma forma precisa e rápida, a estrutura genética das populações, principalmente pela definição dos padrões de diversidade genética inter e intrapopulacional, dispersão dos indivíduos e prejuízos decorrentes da redução da base genética proveniente do processo de fragmentação.

2.4 Variabilidade genética

O sucesso de programas de melhoramento genético e conservação genética depende diretamente dos níveis de variabilidade genética das populações de interesse.

Uma população pode ser definida, de um ponto de vista genético, por um grupo de indivíduos da mesma espécie, que se intercasalam, possuindo, por isso, propriedades comuns, ocupando o mesmo espaço, bem como tendo continuidade no tempo. A troca de alelos que ocorre entre os seus membros e a transmissão deles de uma geração para outra são os aspectos mais importantes na definição de "população". Portanto, um reservatório ou conjunto gênico ("pool gênico") se constitui de toda informação contida num grupo de indivíduos que se intercasalam e é reconstituído a cada geração (Mettler e Gregg, 1973).

Ao nível molecular, a variabilidade genética natural manifesta-se em indivíduos dentro de população, em populações dentro de espécie, ao nível de espécie e ao nível de ecossistema. A estrutura genética das populações envolve o conhecimento dos níveis de variabilidade genética e de sua distribuição entre e dentro de populações, sendo este conhecimento muito importante por permitir a adoção de estratégias de manejo mais adequadas para a conservação genética e também na exploração desta variabilidade em melhoramento vegetal (Kageyama, 1987; Dias e Kageyama, 1991).

Segundo Hamrick e Murawski (1991), a magnitude da variabilidade isoenzimática dentro de populações de plantas é influenciada por fatores ecológicos e da história vital das espécies, assim como pela história recente das populações (Brown, 1979; Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick e Godt, 1989). Por exemplo, as populações que têm sido pequenas por várias gerações, ou que atravessaram uma série de gargalos genéticos, podem ter uma menor variabilidade genética do que aquelas populações que têm sido grandes e estáveis por várias gerações (Nei, Murayama e Chakraborty, 1975; Karron, 1987; Karron *et al.*, 1988). Nei, Murayama e Chakraborty (1975) apontam, com a deriva genética, que o número médio de alelos por loco diminui porque a probabilidade de um alelo raro ocorrer em uma população fundadora diminui com o tamanho da população.

Um fator que se deve levar em conta com relação aos estudos populacionais refere-se ao procedimento de amostragem a ser adotado. Tem havido discussões na literatura sobre o número mínimo de locos necessários para produzir estimativas geralmente aceitáveis da variação genética. Lewontin (1974) é da opinião de que estudos com menos de 18 locos são de valor questionável. Outros autores (Powell, 1975) não têm incluído estudos em que menos de 10 locos tenham sido utilizados. Outros critérios que são

freqüentemente aplicados relacionam-se ao número de populações por espécie e ao número de indivíduos por população (Hamrick, 1979).

Uma vez que indivíduos, e não genótipos de um único loco, são produzidos por eventos de cruzamentos e/ou endogamia, torna-se mais intuitivo o uso de vários locos polimórficos simultâneos para o exame do sistema reprodutivo (Shaw e Allard, 1981; Shaw, Kahler e Allard, 1981).

Dado que o esforço experimental total, ou o custo, é limitado, existe uma escolha, então, entre amostrar um grande número de locos para um número restrito de indivíduos e amostrar um grande número de indivíduos para poucos locos. A máxima eficiência para estimar a taxa de cruzamento em plantas predominantemente endogâmicas, nas quais o equilíbrio é comum (Brown, 1979), dá-se a partir de grandes amostras com poucos locos polimórficos. Em contraste, em plantas predominantemente alogâmicas, mais locos devem ser amostrados em detrimento do tamanho de amostras de indivíduos, para aumentar a eficiência estatística. O primeiro procedimento aumentará a precisão da estimativa de cruzamento em uma população pelo registro de mais zigotos, enquanto o segundo aumenta a precisão pelo aumento da probabilidade de detectar geneticamente cada evento de alocruzamento (Shaw e Brown, 1982).

Aumentar o número de enzimas freqüentemente exige o uso de sistemas tampões adicionais para se obter uma resolução adequada, e isso envolve tempo adicional, trabalho e despesas. Em contrapartida, uma vez que os sistemas tampões para certas enzimas já tenham sido determinados para um grupo de plantas, é relativamente simples o exame de um grande número delas. Como consequência, a maioria dos estudos sistemáticos utilizando eletroforese é provavelmente deficiente no número de enzimas, ao invés de sê-lo em número de plantas examinadas (Crawford, 1983, 1990).

Para a realização do estudo da variabilidade genética em populações naturais, são necessárias duas etapas fundamentais: uma é descrever os níveis de

variação genética mantida dentro das populações de espécies; a outra é descrever o caminho pelo qual a variação genética é partida entre e dentro de populações. (Loveless e Hamrick, 1987; Kageyama, 1987).

2.5 Estrutura genética de populações

Uma espécie é formada por populações espalhadas por sua área de distribuição geográfica. Uma população é uma coleção de indivíduos pertencentes à mesma espécie e que convivem em uma área geográfica de tamanho suficientemente restrito, para que qualquer desses indivíduos tenha chance de se cruzar com qualquer outro de sexo oposto (Silvertown e Doust, 1993). A estrutura genética da população refere-se à heterogeneidade na distribuição dos genes e do grau de endogamia dentro de populações e entre estas.

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 pode ser manipulada (Alfenas, 1998).

A maneira como os indivíduos pertencentes a uma espécie se distribuem no espaço físico depende: a) dos limites estabelecidos por variáveis ecológicas; b) do modo de reprodução e dos mecanismos de dispersão da espécie; c) de eventos estocásticos que resultam na formação e extinção de populações ou em variações em seu tamanho efetivo (incluindo colonizações e recolonizações a diversas escalas) e d) de variáveis ambientais que impõem diferentes coeficientes de seleção a cada genótipo.

A estrutura genética resulta da ação combinada de determinantes evolutivos, tais como, mutação, migração, deriva genética e seleção. A distribuição dessa variabilidade genética em populações naturais é influenciada principalmente pelo método de reprodução, sistema de cruzamento, tamanho efetivo da população, fluxo gênico e distribuição geográfica, sendo ainda estruturada no tempo e no espaço (Hamrick, 1983).

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, Kahler e Allard, 1978).

A caracterização da variabilidade genética dentro de populações é efetuada a partir de medidas de diversidade intrapopulacionais, como: a porcentagem de locos polimórficos (P); o número médio de alelos por loco polimórfico (AP); o número médio de alelos observados (A); a heterozigose média esperada (He) por loco e o número efetivo de alelos (Ae). Algumas vezes, também é utilizada a heterozigose média observada (Ho) por loco.

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações é o produto da interação de vários fatores evolucionários. A seleção, o tamanho efetivo de populações e a capacidade de a espécie dispersar pólen e sementes são de grande importância nessa distribuição. De forma geral, a seleção pode aumentar a diferenciação entre as populações, já provocada pela deriva genética. Espécies que possuem intenso movimento de pólen e sementes apresentam menor diferenciação que espécies com fluxo gênico restrito (Hamrick, 1989).

A estrutura genética de populações, a partir de dados enzimáticos, pode ser caracterizada utilizando três metodologias distintas: análise de variância de

freqüências alélicas (Vencovsky, 1992; Weir, 1996), estimativas da diversidade genética de Nei (1973, 1978) e estatística F de Wright (Wright, 1965). A análise da variância fornece a distribuição da variabilidade genética em diversos níveis hierárquicos. A diversidade genética de Nei fornece a proporção da variabilidade genética contida entre e dentro das populações, e a estatística F fornece os índices de fixações alélicas do total de populações, média dentro e entre populações, ou seja, fornece a probabilidade de dois genes tirados ao acaso, de diferentes níveis populacionais, serem idênticos por descendência.

A estatística F tem, também, sido utilizada para quantificar a estrutura genética de populações por fornecer os níveis de fixação alélica dentro das populações (F_{IS}) entre populações (F_{ST}) e total das populações (F_{IT}). Além disso, esta estatística também infere sobre a aderência das populações ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e, portanto, ao sistema de cruzamento. Valores de F iguais a zero indicam que os genótipos da população se encontram em EHW. Valores de F maiores que zero indicam excesso de homozigotos, e valores menores que zero indicam excesso de heterozigotos.

A concentração de esforços na conservação genética de espécies arbóreas deve ser determinada pela distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações, visando preservar o máximo da variabilidade das populações naturais. Além disso, a conservação genética de populações de plantas que apresentam pouco interesse na atualidade, e cuja estrutura genética é desconhecida, deve ser pautada por um procedimento amostral tão amplo quanto possível (Dias e Kageyama, 1991). Na preservação dos ecossistemas tropicais e da diversidade biológica, é crucial que populações viáveis, do ponto de vista evolutivo das florestas, persistam (Liengsiri, Yet e Boyle, 1995).

2.6 Fluxo gênico e tamanho de vizinhança

Fluxo gênico é um termo coletivo que inclui todos os mecanismos que resultam no movimento de genes de uma população para outra e que determinam a extensão para a qual as mudanças genéticas em populações locais são independentes (Slatkin, 1985).

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

1. O modelo de “continente-ilha”, que é a representação mais simples do processo de colonização. Esse baseia-se no modelo de migração de ilhas de Wright (1940) e assume migração unidirecional de uma fonte relativamente grande, com uma frequência alélica fixada para colônias pequenas isoladas ou ilhas. Em equilíbrio, as frequências alélicas em colônias pequenas e isoladas podem diferir significativamente de sua fonte e dependendo da taxa de expansão, podem diferir da composição genética dos migrantes iniciais devido à deriva (Nei, Murayama e Chakraborty, 1975). Podem ser aplicados para populações de plantas que envolvem dispersão a longa distância, e são particularmente relevantes para a distribuição de plantas colonizadoras (Barrett e Husband, 1989).
2. O modelo de “ilhas”, no qual a migração ocorre entre subpopulações. Ao contrário do modelo continente-ilha, a migração é multidirecional porque as subpopulações são assumidas de terem o mesmo tamanho efetivo.
3. O modelo de “alpondras” (“*stepping-stone*”), no qual cada população recebe migrantes somente de populações vizinhas. No modelo de alpondras (Kimura e 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 as separam (Barrett e Husband, 1989).

4. O modelo de “isolamento pela distância”, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre vizinhos, em uma população de distribuição contínua. Na maioria dos casos reais, os imigrantes, em grande parte, vêm de grupos vizinhos, havendo um maior ou menor grau de isolamento pela distância (Wright, 1969). No extremo oposto ao modelo de ilhas está o de distribuição contínua uniforme (completa), com os cruzamentos restringindo-se a pequenas distâncias pela ocorrência de pequenas amplitudes médias de dispersão. As populações remotas diferenciam-se meramente pelo isolamento pela distância (Wright, 1938, 1940, 1943).

O termo “fluxo gênico” é empregado com dois significados diferentes na literatura (Slatkin e Barton, 1989). A confusão causada por isso é composta pelas diferenças entre os modelos de estrutura populacional. Um dos meios de quantificar o fluxo gênico é pelo uso de um parâmetro que descreve o movimento de cada gameta ou indivíduo, independentemente do tamanho populacional. O outro meio de quantificar o fluxo gênico é em termos dos números de gametas ou de indivíduos que se movem. No modelo de ilhas, esse é o Nm , e nos modelos em látice e de distribuição contínua, é o tamanho da vizinhança, Nb . Esta é uma generalização do modelo de alondras para permitir padrões de dispersão arbitrária, de acordo com Malécot (1975) e Weiss e Kimura (1965).

Os valores de Nm e Nb determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Se Nm ou Nb são maiores que 1,0, então o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir uma diferenciação devido à deriva (Slatkin e Barton (1989).

Enquanto as medidas diretas de estimativas do fluxo gênico baseiam-se na distância de transporte de grãos de pólen e sementes, as indiretas fundamentam-se na relação entre a taxa de migração (m) e a divergência entre populações, indicando uma relação inversa entre a divergência e a migração, considerando um modelo de ilhas (Reis, 1996). Slatkin (1985) pondera que o termo migração é algumas vezes usado como sinônimo de fluxo gênico, o qual está correto quando a migração entre populações estabelecidas é o mecanismo para o fluxo de genes.

Wright (1931) mostrou que a variância da distribuição da frequência gênica entre grupos, considerando a relação entre migração e divergência em um modelo de ilhas, é:

$$\sigma_q^2 = q_m(1 - q_m)/(4Nm + 1)$$

em que:

q_m = frequência alélica média entre os grupos;

N = tamanho efetivo populacional;

m = proporção de migração entre os grupos.

Desta equação, tem-se que $\sigma_q^2 / q_m(1 - q_m) = 1/(4Nm + 1)$ e, portanto, como o F_{ST} (medida da divergência entre populações) é dado por $F_{ST} = \sigma_q^2 / \bar{q}(1 - \bar{q})$, estabelece-se a relação notada por Wright (1951), como:

$$F_{ST} = 1/(4Nm + 1)$$

Assim, o valor de F_{ST} pode ser usado para estimar Nm e, conseqüentemente, o fluxo gênico, com o adendo de que o F_{ST} , obtido segundo o modelo de ilhas de Wright, não requer nenhuma pressuposição sobre as causas das diferenças entre as subpopulações ou grupos (Slatkin, 1985).

A utilização de estimativas de divergência genética para determinar o total de fluxo gênico é um método tão eficiente quanto os demais, mesmo quando o modelo de estrutura populacional é contínuo ou quando existem efeitos de seleção (Slatkin e Barton, 1989).

Alguns modelos variantes ao de Wright na estimativa de Nm foram apresentados, considerando as fontes de variação na composição estatística do F_{ST} ou incorporando fatores como mutação.

No primeiro caso, devido às propriedades estatísticas do F_{ST} , segundo Slatkin (1985), o problema é combinar as informações de diferentes alelos para produzir uma estimativa com melhores propriedades estatísticas. Em sua revisão, este autor conclui que o modelo proposto por Wright é válido desde que o número de grupos ou subpopulações seja grande e os efeitos de mutação sejam pequenos. Além disso, o F_{ST} pode ser combinado sob diferentes locos sem ter que assumir taxas iguais de mutação entre os locos.

Assim, Crow e Aoki (1984) dão uma equação para a estimativa de Nm com base na variabilidade genética total (F_{ST}), a qual é:

$$F_{ST} = 1/(4Nm\alpha + 1) \quad \text{ou} \quad Nm = (1/F_{ST} - 1)/4\alpha$$

Em que: $\alpha = [n/(n-1)]^2$
 n = número de populações.

Uma vez mais, esta equação reduz-se à usual relação de Wright quando n for grande (Crow e Aoki, 1984).

Cockerham e Weir (1987) realizaram derivações de estimativas de fluxo gênico por meio de medidas de correlações e de identidades por descendência a partir de uma estrutura hierárquica de análise das frequências gênicas de genes dentro de indivíduos, indivíduos dentro de subpopulações e estas dentro de

populações. Suas medidas de certa forma concordam com a de Crow e Aoki (1984), exceto quanto ao número de subpopulações (n), que afeta diretamente a estimativa do F_{ST} , não sendo relevante no parâmetro de divergência estimado por Cockerham e Weir (1987).

Posteriormente, Cockerham e Weir (1993) realizaram simulações a partir de trabalhos relacionados ao assunto; porém, usando diferentes estimadores da divergência entre populações, concluíram que os métodos para estimar o fluxo gênico baseados nas estatísticas de F tendem a ter grandes variâncias mas em certas condições podem prover estimativas de baixo viés.

A abordagem do fluxo gênico a partir da correlação entre divergência e migração permite, portanto, quantificar o movimento de gametas ou indivíduos por meio de parâmetros que independem do tamanho da população.

No caso do modelo de ilhas, este parâmetro pode ser Nm , que mede o número de gametas ou indivíduos que movem-se, ou o Nb , que representa o tamanho de vizinhança nos modelos contínuos (isolamento pela distância) (Slatkin e Barton, 1989), sendo que a relação entre Nm e Nb é:

$$Nb = 2\pi Nm$$

De acordo com Sebbenn (1997), o tamanho de vizinhança corresponde ao número médio de indivíduos em uma área em que ocorre panmixia.

Wright (1931), baseando-se em uma curva de distribuição de frequências gênicas entre grupos de uma população, demonstrou que quando m é menor que $1/2N$, há a tendência para a fixação ou 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 suficiente entre populações, ou, em outras palavras, conforme Reis (1996), os efeitos da migração são suficientes para se contraporem aos efeitos da deriva.

Reis (1996), analisando populações naturais de palmitheiro (*Euterpe edulis*), encontrou valores de Nm e Nb iguais a 10,7 e 67,0, respectivamente. A área de vizinhança calculada foi 7.586 m². No estudo de populações naturais de *Genipa americana*, Sebbenn (1997) encontrou um valor de Nm igual a 41,42 e de Nb igual a 260,23.

2.7 Sistema reprodutivo

A técnica de marcadores genéticos tem sido muito utilizada em estudos de biologia populacional de plantas, principalmente por fornecer numerosos marcadores que podem ser utilizados para quantificar o processo de transmissão genética entre plantas e para descrever a transmissão genética entre gerações (Clegg, 1980).

No caso de espécies arbóreas tropicais, existem poucas informações com relação ao sistema de cruzamentos. O conhecimento dos métodos reprodutivos é de extrema importância para compreender os padrões de fluxo gênico e a diferenciação genética entre e dentro populações (Bawa, 1974; Clegg, 1980; Hamrick, 1989). O estudo do sistema reprodutivo pode fornecer informações importantes sobre os padrões de cruzamentos, a dinâmica dos processos micro evolucionários e quais as melhores formas para a conservação e manejo dessas espécies.

As plantas possuem uma ampla variação de estrutura de cruzamentos, tais como: sistema de endogamia e freqüente autofecundação; cruzamentos associativos negativos decorrentes dos vários tipos de sistemas de incompatibilidade e endogamia decorrente do agrupamento de indivíduos aparentados dentro de uma pequena área de vizinhança (Clegg, 1980).

Em populações com espécies dióicas, o sistema de reprodução mais comum são os cruzamentos ao acaso (populações panmíticas), visto que

qualquer indivíduo tem a mesma probabilidade de acasalar com qualquer outro do sexo oposto, independente do seu genótipo (Mettler e Gregg, 1973).

Os sistemas de cruzamentos nas plantas com reprodução sexuada variam desde a autogamia completa até a fecundação cruzada obrigatória. A reprodução sexuada com autogamia predominante (frequência de autofecundação superior a 90%) leva ao desequilíbrio de ligação entre todos os locos no genoma. A população fica constituída por linhas homozigotas, preservando as combinações de alelos em todos os locos (Allard, Jain e Workman, 1968).

Nas espécies autógamias ou nas espécies com reprodução assexuada, a descrição e as frequências relativas dos genótipos compostos permitem a caracterização de ecotipos, raças geográficas e acessos em coleções de germoplasma. Amostras semelhantes, tomadas em espécies com fecundação cruzada, não permitem o mesmo tipo de caracterização, porque a recombinação desfaz as associações entre os alelos de geração em geração.

A taxa de fecundação cruzada (t) pode variar consideravelmente de planta para planta, de local para local e de ano para ano. O valor de t depende das características genéticas da planta, que possibilitam ou impedem a autofecundação (como a estrutura da flor e os sistemas de auto-incompatibilidade) e de fatores ecológicos. As diferenças em fertilidade (produção de óvulos, pólen e sementes), a sincronia no florescimento e a atividade de insetos ou outros polinizadores variam no espaço e no tempo durante o período de florescimento (Hamrick e Schnabel, 1985; Fripp, Griffin e Moran, 1987). A densidade das árvores em uma população natural ou o espaçamento destas em um pomar de sementes influencia o número de genitores masculinos que potencialmente podem participar de um cruzamento (Hamrick, Murawski e Nason, 1993).

De início, as descrições de sistemas de cruzamento em plantas foram baseadas na morfologia das flores e em testes de autofertilidade. Frixel (1957)

fez a primeira revisão desses estudos, incluindo 1.200 espécies. Fyfe e Bailey (1951) foram os primeiros a empregar marcadores genéticos (morfológicos) para examinar sistemas de cruzamento em plantas. A eletroforese de isoenzimas deu início a uma nova fase nesses trabalhos (Brown, 1989), porque a identificação imediata de heterozigotos na progênie permitiu desenvolver modelos estatísticos mais sofisticados.

Brown, Matheson e Eldridge (1975) desenvolveram o modelo básico para a análise do sistema misto de cruzamento. Esse modelo pressupõe: i) ausência de distorções na segregação mendeliana do marcador; ii) ausência de mutações, seleções e deriva genética; iii) frequências alélicas homogêneas no conjunto do pólen durante o período de florescimento; iv) fecundidade uniforme entre as plantas; e v) troca de genes ao acaso dentro da população.

Na formulação do modelo misto de cruzamento, a probabilidade condicional de obter cada genótipo na progênie, dado o genótipo da matriz materna, é uma função das taxas t ; s (autofecundação) e da frequência alélica no pólen (p).

Em uma segunda etapa, foram desenvolvidos procedimentos estatísticos utilizando genótipos compostos, compreendendo a informação contribuída por vários locos de isoenzimas simultaneamente (Ritland e Jain, 1981; Shaw, Kahler e Allard, 1981).

Ritland e Jain (1981) desenvolveram um algoritmo que permite estimar os valores de t e de p simultaneamente, usando genótipos compostos. Para estimar esses valores, faz-se a genotipagem da progênie de polinização aberta obtida de uma amostra de plantas na população. A progênie de cada planta representa uma família, constituída por meio-irmãos e irmãos completos em proporções ditadas pela taxa de fecundação cruzada t . O algoritmo calcula as frequências alélicas no conjunto de famílias, assim como as frequências esperadas dos genótipos simples (considerando-se um loco por vez) e dos

genótipos compostos (considerando-se todos os locos simultaneamente). Valores iniciais fictícios para t e p são fornecidos ao algoritmo para dar início aos cálculos, uma vez que esses dois parâmetros constituem as incógnitas. A partir desses valores, o algoritmo calcula as frequências esperadas dos genótipos em cada família e as compara com as frequências observadas. Em seguida, o algoritmo passa a ajustar os valores de t e p iniciais, de modo a aumentar a concordância entre as frequências genotípicas observadas e as esperadas. O procedimento é repetido, iterativamente, até que sejam alcançados os valores de t e p que maximizam a probabilidade da distribuição dos genótipos em cada família e na população como um todo.

A diferença entre a média das estimativas de t_i , feita com base nos genótipos simples (ts), e a estimativa feita a partir dos genótipos compostos (tm) indica a presença de estrutura interna na população. Essa estrutura se deve aos cruzamentos não ao acaso e não afeta cada loco da mesma forma. Os cruzamentos não ao acaso se devem à formação de vizinhanças genéticas e à heterogeneidade nas frequências alélicas no pólen durante o período de florescimento (resultantes da desuniformidade no florescimento ou das diferenças em fecundidade entre as plantas). Os valores de ts obtidos representam estimativas independentes do valor de t . Para isso, os locos utilizados como marcadores precisam segregarem independentemente. A estimativa de tm se baseia na distribuição da probabilidade de se obterem os diferentes genótipos compostos. Como o número de genótipos compostos possíveis é maior do que o número de genótipos formados, tomando-se cada loco separadamente, os testes de significância para as estimativas de tm proporcionam maior número de graus de liberdade, o que é desejável para a sua maior precisão estatística.

O modelo misto de cruzamento (Brown, Matheson e Eldridge, 1975) classifica os indivíduos dentro da progênie em duas categorias: originados por

autofecundação e originados por fecundação cruzada. Esse modelo parte da premissa de que a endogamia presente na população é devida somente à autogamia e, por isso, tende a fornecer estimativas para s mais altas do que as reais. Ritland (1984,1985,1986) modificou o modelo misto, criando o conceito de endogamia efetiva. Para determinada população e geração, representou por si a taxa de autofecundação no grupo que já acumulou endogamia em gerações anteriores e por s a taxa de autofecundação no grupo de indivíduos que ainda não sofreram endogamia. A endogamia efetiva praticada nessa população é constituída por $E = Fsi + (1 - F)$, sendo F o índice de Sewall Wright (Wright, 1951; 1969; 1978), que é o parâmetro utilizado para medir a endogamia estabelecida na população, de geração em geração, por causa de seu tamanho finito. O conceito de endogamia efetiva é importante porque os valores si e s podem ter bases genéticas diferentes.

TABELA 1: Índices de diversidade de espécies de Angiospermas arbóreas tropicais. (Citado por Moraes, 1997).

Espécies	Família	Local	Nl	Np	Ni	P(%)	A	Ac	Ilo	He	Distrib.	Referência
<i>Acacia auriculiformis</i>	Leguminosae	Oceania	18	2	32					0.146	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989a)
<i>Acacia auriculiformis</i>	Leguminosae	Queensland-Austrália	27	1	37					0.084	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia auriculiformis</i>	Leguminosae	Austrália/ Papua Nova Guiné	22	18	860	39.8	1.5	1.1	0.071	0.081	Ampla	Wickneswari e Norwati (1993)
<i>Acacia crassicarpa</i>	Leguminosae	Austrália-Papua Nova Guiné	18	2	36					0.140	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989a)
<i>Acacia crassicarpa</i>	Leguminosae	Papua Nova Guiné	26	1	30					0.081	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia dealbata</i>	Leguminosae	Austrália	16	1	30					0.085	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia decurrans</i>	Leguminosae	Austrália	26	1	22					0.156	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia mangium</i>	Leguminosae	Oceania	30	11	495	12.7	1.14		0.015	0.017	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia mearnsii</i>	Leguminosae	Austrália	20	1	22					0.206	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia melanoceros</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	33	1	13	30.3				0.107	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Acacia melanoxylon</i>	Leguminosae	Austrália	19	1	50					0.300	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia parramattensis</i>	Leguminosae	Austrália	21	1	22					0.179	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia trachypholia</i>	Leguminosae	Austrália	11	1	21					0.083	Ampla	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acalypha diversifolia</i>	Euphorbiaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1		42.3	1.89			0.194	Regional	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Acalypha diversifolia</i>	Euphorbiaceae	Barro Colorado-Panamá	29	1		67.8	2.14	1.74		0.273	Regional	Loveless e Hamrick (1987)
<i>Acrocomia aculeata</i>	Palmae	Goiás-Brasil	12	10	216	100	2.0		0.182	0.375	Ampla	Lopes <i>et al.</i> (1992)
<i>Aeschynomene sensitiva</i>	Leguminosae	Amazônia-Brasil	5	10	50	18.8				0.100-0.425	Regional	Hill <i>et al.</i> (1978)
<i>Aeschynomene sensitiva</i> var. <i>amazonica</i>	Leguminosae	Amazônia-Brasil	5	11	55	23.8				0.184-0.364	Ampla	Hill <i>et al.</i> (1978)
<i>Alseis blackiana</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	24	1		54.2	1.92			0.205	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Alseis blackiana</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1		89.7	2.64	1.78		0.374	Ampla	Loveless e Hamrick (1987)
<i>Aspidosperma polyneuron</i>	Apocynaceae	Gálea-São Paulo	8	2	116	50	2.0-1.8		0.237-0.239	0.243-0.270	Ampla	Maltez (1997)

<i>Astrocaryum mexicanum</i>	Palmae	Los Tuxtlas-México	22	4	409	31,8	1,86	0,153	Regional	Eguarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)		
<i>Bauhinia forficata</i>	Leguminosae	Meta de Planalto, Piracicaba-SP	4	1	100	3,75	0,451	0,503	Ampla	Santos (1994)		
<i>Bertholletia excelsa</i>	Lecythidaceae	Amazônia-Brasil	35	2	1160	54,3	1,29	0,190	Ampla	Buckley <i>et al.</i> (1988)		
<i>Bowdichia virgiltoides</i>	Leguminosae	Brasil		1				0,126	Ampla	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)		
<i>Brosimum alcastrum</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	21	1	50	28,6	1,48	0,125	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)		
<i>Bulnesia arborea</i>	Zygophyllaceae	Colômbia	21	1	13	28,6			Regional	Hunziker e Schaal (1983)		
<i>Bulnesia carrapo</i>	Zygophyllaceae	Colômbia	22	1	13	22,7			Endêmica	Hunziker e Schaal (1983)		
<i>Carapa gualanensis</i>	Meliaceae	Costa Rica	16	9	231	35,0	1,18	0,120	Ampla	Hall, Orrell e Bawa (1994)		
<i>Cariniana legalis</i>	Lecythidaceae	Brasil		3				0,140	Ampla	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)		
<i>Cavanillesia platanifolia</i>	Bombacaceae	Barro Colorado-Panamá	42	1	13	31,0		0,123	Regional	Hamrick e Murawski (1991)		
<i>Cecropia insignis</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	31	1		32,3	1,52	0,103		Hamrick e Loveless (1986b)		
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Moraceae	Los Tuxtlas-México	48	9	616	27,0		0,280	Ampla	Alvarez-Buylla e Garay (1994)		
<i>Cedrella fissilis</i>	Meliaceae	Mata Atlântica - São Paulo	13	1	34	76,9	2,31	0,222	0,243	Ampla	Gandara (1996)	
<i>Cedrella fissilis</i>	Meliaceae	Arapoti - Panamá	13	1	55	55,56	1,89	0,172	0,178	Ampla	Gandara (1997)	
<i>Cedrella fissilis</i>	Meliaceae	Arapoti - Panamá	13	1	46	66,7	1,90	0,141	0,204	Ampla	Gandara (1997)	
<i>Ceiba pentandra</i>	Bombacaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1		30,8	1,43	0,106	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)		
<i>Chorisia speciosa</i>	Bombacaceae	Bauru - São Paulo	9	1	53	77,78	2,22	0,245	0,284	Ampla	Souza (1997)	
<i>Chorisia speciosa</i>	Bombacaceae	Bauru - São Paulo	8	1	15	62,5	2,00	0,203	0,271	Ampla	Souza (1997)	
<i>Chorisia speciosa</i>	Bombacaceae	Bauru - São Paulo	8	1	12	75,0	2,30	0,306	0,307	Ampla	Souza (1997)	
<i>Chorisia speciosa</i>	Bombacaceae	Bauru - São Paulo	8	1	10	75,0	2,30	0,263	0,324	Ampla	Souza (1997)	
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Caesalpiniaceae	Lavras - Minas Gerais	12	3	73					Ampla	Esse trabalho	
<i>Cordia alliodora</i>	Boraginaceae	América Central	15	11	550	44,0	1,45	1,15	0,143	Ampla	Chase, Boshier e Bawa (1995)	
							2,00	1,36				
<i>Cordia trichotoma</i>	Boraginaceae	Brasil		3					0,184	Ampla	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)	
<i>Couratari gualanensis</i>	Lecythidaceae	Amazônia - Brasil	8	1	27	100,0	2,75	1,70	0,203	0,429	Ampla	Lepach-Cunha (1996)
<i>Couratari multiflora</i>	Lecythidaceae	Amazônia - Brasil	8	1	41	100,0	3,25	1,92	0,359	0,436	Ampla	Lepach-Cunha (1996)
<i>Cryptocarpa maschata</i>	Lauraceae	Mata Atlântica - São Paulo	20	4	214	85,0	2,00	1,66	0,323	0,351	Ampla	Moraes (1997)

<i>Dipterix panamensis</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	31	1		22,6	1,34		0,074	Regional	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	29	1	13	27,6			0,122	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Erythrina costaricensis</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	41	1		41,5	1,70		0,152	Regional	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Euterpe edulis</i>	Palmae	Mata Atlântica – SP, SC	7	8	198	85,7	3,40	0,476	0,452	Ampla	Reis (1996)
<i>Faramea occidentalis</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	14	1		0,0	1,00		0,00	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Ficus costaricana</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	19	1	8	84,2			0,248	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Ficus maxima</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	20	1	6	35,0			0,136	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Ficus obtusifolia</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	19	1	6	84,2			0,254	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Ficus popenoei</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	21	1	6	66,7			0,158	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Gustavia superba</i>	Lecythidaceae	Barro Colorado-Panamá	29	1		34,5	1,73		0,134	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Hevea brasiliensis</i>	Euphorbiaceae	Acre	4	2	953	100,0	4,0-4,30	0,252-0,229	0,-0,319	Ampla	Paiva (1992) Paiva et al. (1994)
<i>Hirtella triandra</i>	Crysobalanaceae	Barro Colorado-Panamá	30	1		36,7	1,57		0,142		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Hura crepitans</i>	Euphorbiaceae	Barro Colorado-Panamá	34	1		20,6	1,35		0,081	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Hybanthus prunifolius</i>	Violaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1		30,8	1,31		0,116		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Hybanthus prunifolius</i>	Violaceae	Barro Colorado-Panamá	42	1		69,8	1,87 1,47		0,247		Loveless e Hamrick (1987)
<i>Inga minutula</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	25	1	11	68,0			0,240	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Jacaranda copaia</i>	Bignoniaceae	Barro Colorado-Panamá	21	1		23,8	1,36		0,090	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Johannestia princeps</i>	Euphorbiaceae	Brasil		3					0,141	Ampla	Herrit (1991) Apud Reis (1996)
<i>Koanophyllon wetmorei</i>	Solanaceae	Barro Colorado-Panamá	24	1	7	25,0			0,095	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Lisianthus skinneri</i>	Gentianaceae	Panamá	12	7	175	13,1	1,13	0,032	0,035	Regional	Systema e Schaal (1985)
<i>Lozania pittieri</i>	Lacistemaceae	Barro Colorado-Panamá	14	1	8	14,3			0,062	Regional	Hamrick e Murawski (1991)

<i>Mabea occidentalis</i>	Euphorbiaceae	Barro Colorado-Panamá	20	1		25,0	1,33			0,054		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Mimosa pigra</i>	Leguminosae	Amazônia - Brasil	2	5		100,0	2,50			0,431	Ampla	Hill <i>et al.</i> (1978)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Anacardiaceae	Bauru (SP), Servíria (MS)	3	2	1020	66,7	2,83	1,79	0,140-0,160	0,356-0,243	Ampla	Moraes (1992)
<i>Myrospermum frutescens</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	37	1	22	76,0				0,257	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Ocotea skutchii</i>	Lauraceae	Barro Colorado-Panamá	18	1		11,1	1,11			0,039	Regional	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Ocotea tenora</i>	Lauraceae	Monteverde - Costa Rica	18	6	112	42,9	1,83	1,47	0,174	0,205	Regional	Gibson e Wheelwright (1995)
<i>Persea americana (cultivares)</i>	Lauraceae	Flórida, Califórnia - EUA	10			80,0	1,90				Ampla	Torres <i>et al.</i> (1978)
<i>Pithecellobium pedicellare</i>	Leguminosae	Costa Rica	4	1	38	100,0	2,25			0,367	Ampla	O' Malley e Bawa (1987)
<i>Platypodium elegans</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	28	1		39,3	1,57			0,183	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Poulsenia armata</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	25	1		12,0	1,12			0,039		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Pseudobombax septenatum</i>	Bombacaceae	Barro Colorado-Panamá	24	1	10	27,6				0,121	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Psychotria faxducens</i>	Rubiaceae	Los Tuxtlas-México	20	2		40,0	2,50	1,98	0,198	0,495	Regional	Pérez-Nasser, Eguiarte e Piñero (1993)
<i>Psychotria horizontalis</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	15	1		40,0	1,50			0,202		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Psychotria horizontalis</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	20	1		50,0	1,68	1,26		0,152		Loveless e Hamrick (1987)
<i>Pterocarpus macrocarpus</i>	Leguminosae	Tailândia				82,3	2,67		0,222	0,246		Liengsiri, Yet e Boyle (1995)
<i>Quararibea asterolepis</i>	Bombaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1		23,1	1,31			0,100		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Quararibea asterolepis</i>	Bombaceae	Barro Colorado-Panamá	30	1		64,4	1,99	1,52		0,256	Regional	Loveless e Hamrick (1987)
<i>Quassia amara</i>	Simaroubaceae	Barro Colorado-Panamá	27	1		11,1	1,11			0,040		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Rinorea sylvatica</i>	Violaceae	Barro Colorado-Panamá	20	1		15,0	1,15			0,046		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Rinorea sylvatica</i>	Violaceae	Barro Colorado-Panamá	35	1		35,2	1,43	1,19		0,106		Loveless e Hamrick (1987)
<i>Schizolobium parahybum</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	32	1	11	34,4				0,091	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)

<i>Sorocea affinis</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	34	1	52,9	1,86	0,216	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Sorocea affinis</i>	Moraceae	Barro Colorado-Panamá	36	1	72,2	2,04 1,42	0,239	Ampla	Loveless e Hamrick (1987)
<i>Stemonoporus oblongifolius</i>	Dipterocarpaceae	Sri Lanka	9	4	158	100,0 3,11 1,79	0,342	Endêmica	Murawski, Gunatilleke e Bawa (1994)
<i>Swartzia simplex</i> var. <i>grandiflora</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	30	1	40,0	1,98	0,203		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Swartzia simplex</i> var. <i>ochracea</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	31	1	48,4	1,94	0,209		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Swartzia simplex</i> var. <i>ochracea</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	36	1	75,9	2,34 1,50	0,272		Loveless e Hamrick (1987)
<i>Tabernaemontana arborea</i>	Apocynaceae	Barro Colorado-Panamá	25	1	12,0	1,16	0,052		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Tachigalia versicolor</i>	Leguminosae	Barro Colorado-Panamá	27	1	7,4	1,07	0,023	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Tetragastris panamensis</i>	Burseraceae	Barro Colorado-Panamá	24	1	20,8	1,26	0,060	Regional	Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Tetrathylacium johansenii</i>	Flacourtiaceae	Barro Colorado-Panamá	20	1	7	15,0	0,050	Regional	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Tocoyena pittieri</i>	Rubiaceae	Barro Colorado-Panamá	26	1	6	38,5	0,186	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Tricanthera gigantea</i>	Acanthaceae	Barro Colorado-Panamá	28	1	7	14,3	0,026	Ampla	Hamrick e Murawski (1991)
<i>Trichilia tuberculata</i>	Meliaceae	Barro Colorado-Panamá	27	1	14,8	1,35	0,089		Hamrick e Loveless (1986b)
<i>Virola surinamensis</i>	Myristicaceae	Barro Colorado-Panamá	17	1	29,4	1,71	0,128	Ampla	Hamrick e Loveless (1986b)

Nl: número de locos

Np: número de populações

Ni: número de indivíduos

P(%): porcentagem de locos polimórficos

A: número médio de alelos por locos

Ae: número efetivo de alelos por locos

Ho: Heterozigosidade média observada

He: Heterozigosidade média esperada

TABELA 2: Taxa de cruzamento de populações de Angiospermas arbóreas tropicais. (Adaptado por Moraes, 1997).

Espécie	Local	Ano	NI	\hat{I}_S	\hat{I}_m (E.P)	Autor
<i>Acacia auriculiformis</i>	Coen-Austrália	1986	8	0,880	0,930 (0,040)	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia auriculiformis</i>	Papua Nova Guiné	1986	10	0,880	0,920 (0,023)	Moran, Muona e Bell (1989a)
<i>Acacia crassicarpa</i>	Coen-Austrália	1986	7	1,010	0,990 (0,032)	Moran, Muona e Bell (1989b)
<i>Acacia crassicarpa</i>	Papua Nova Guiné	1982	8	0,950	0,930 (0,030)	Moran, Muona e Bell (1989a)
<i>Aspidosperma polyneuron</i> ^a	Gália-São Paulo	1995	1	0,820		Maltez (1997)
<i>Aspidosperma polyneuron</i> ^a	Gália-São Paulo	1995	2	0,900		Maltez (1997)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1985	2	0,956	0,933 (0,174)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1987	5	1,077	1,050 (0,066)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1987	5	1,078	0,992 (0,039)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1987	5	1,070	1,018 (0,063)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1987	5	1,068	0,985 (0,065)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Astrocaryum maxicanum</i>	Los Tuxtlas-México	1988	5	1,045	1,007 (0,053)	Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero (1992)
<i>Bauhinia forficata</i>	Ibicatu-Piracicaba	1993	4	0,916	0,982 (0,034)	Santos (1994)
<i>Beilschmiedia pendula</i>	IBC-Panamá		3		0,918 (0,058)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Bertholletia excelsa</i>	Acre-Brasil		2	0,798	0,849 (0,033)	O' Malley <i>et al.</i> (1988)
<i>Brosimum alicastrum</i>	IBC-Panamá		7		0,875 (0,035)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Calophyllum longifolium</i>	IBC-Panamá	1992	7	0,974	1,030 (0,085)	Stacy <i>et al.</i> (1996)
<i>Calophyllum longifolium</i>	IBC-Panamá	1993	7	0,948	1,031 (0,035)	Stacy <i>et al.</i> (1996)
<i>Carapa guianensis</i>	O. Fallas-Costa Rica	1991	5	1,000	0,986 (0,028)	Hall, Orrell e Bawa (1994)
<i>Carapa guianensis</i>	La Selva-Costa Rica	1992	5	0,932	0,967 (0,022)	Hall, Orrell e Bawa (1994)
<i>Cavanillesia platanifolia</i> ^a	IBC-Panamá	1987	4	0,523	0,569 (0,024)	Murawski <i>et al.</i> (1990)

<i>Cavanillesia platanifolia</i> ^B	IBC-Panamá	1988	5	0,439	0,347 (0,025)	Murawski <i>et al.</i> (1990)
<i>Cavanillesia platanifolia</i> ^B	IBC-Panamá	1989	4	0,195	0,213 (0,052)	Murawski e Hamrick (1992b)
<i>Cavanillesia platanifolia</i>	Darién-Panamá	1990	6	0,668	0,661 (0,074)	Murawski e Hamrick (1992b)
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Los Tuxtlas-México	1990	8	0,980	0,974 (0,024)	Alvarez-Buylla e Garay (1994)
<i>Cedrella fissilis</i>	PEI-NS-São Paulo	1993	10	0,830	0,920 (0,050)	Gandara (1996)
<i>Ceiba pentandra</i>	IBC-Panamá	1989	6	0,659	0,689 (0,030)	Murawski e Hamrick (1992a)
<i>Chorisia speciosa</i>	Bauru-São Paulo	1997	7	0,602	0,882 (0,088)	Souza (1997)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Lavras-Minas Gerais	2000	12	0,877	0,917 (0,041)	Esse trabalho
<i>Cordia alliodora</i>	Turrialba-Costa Rica		4	0,958	0,966 (0,027)	Boshier, Chase e Bawa (1995a)
<i>Couratari multiflora</i>	Amazônia-Brasil		3	0,968	0,953 (0,040)	Lepsch-Cunha (1996)
<i>Cryptocarya moschata</i>	Mata atlântica-SP	1994	7	0,752	0,862 (0,028)	Moraes (1997)
<i>Dipteryx aleifera</i> ^B	IBC-Panamá				0,740 (0,070)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Hevea brasiliensis</i> ^a	Acre-Brasil		4	0,642		Pniva (1992)
<i>Hevea brasiliensis</i> ^b	Acre-Brasil		4	0,645		Paiva <i>et al.</i> (1994a)
<i>Myracrodruon urundeuva</i> ^a	Bauru/Selvíria		3	0,338		Moraes (1992)
<i>Pithecellobium pedicellare</i>	La Selva-Costa Rica		4	0,936	0,951 (0,022)	O' Malley e Bawa (1987)
<i>Pithecellobium pedicellare</i>	La Selva-Costa Rica		4		0,964 (0,021)	Bawa e O' Malley (1987)
<i>Pithecellobium pedicellare</i>	La Selva-Costa Rica				0,986 (0,014)	Hall, Bawa e Walker ¹⁰
<i>Platypodium elegans</i> ^B	IBC-Panamá	1988	10		0,924 (0,043)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Platypodium elegans</i> ^A	IBC-Panamá	1989	10		0,898 (0,043)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Psychotria faxlucens</i>	Los Tuxtlas	1987	6	0,996	1,008 (0,122)	Pérez-Nasser, Eguiarte e Piñero (1993)
<i>Psychotria faxlucens</i>	Los Tuxtlas	1987	6	0,959	1,025 (0,106)	Pérez-Nasser, Eguiarte e Piñero (1993)
<i>Quararibea asterolepis</i>	IBC-Panamá		5	0,972	1,008 (0,010)	Murawsk <i>et al.</i> (1990)
<i>Shorea congestiflora</i>	Sri Lanka	1990	6	0,852	0,874 (0,021)	Murawsk, Gunatilleke e Bawa (1994)
<i>Shorea trapezifolia</i>	Sri Lanka	1990	2	0,519	0,544 (0,036)	Murawsk, Gunatilleke e Bawa (1994)

<i>Shorea trapezifolia</i>	Sri Lanka	1991	4	0,602	0,617 (0,030)	Murawsk, Gunatilleke e Bawa (1994)
<i>Sorocea affinis</i> ^b	IBC-Panamá		5		1,089 (0,045)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Sorocea affinis</i> ^A	IBC-Panamá		5		0,969 (0,020)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Spondias mombin</i>	IBC-Panamá	1992	5	0,996	0,989 (0,163)	Stacy <i>et al.</i> (1996)
<i>Spondias mombin</i>	IBC-Panamá	1993	5	1,280	1,304 (0,108)	Stacy <i>et al.</i> (1996)
<i>Stemonoporus oblongifolius</i>	Moray-Sri Lanka	1991	5	0,889	0,844 (0,021)	Murawski e Bawa (1994)
<i>Tachigali versicolor</i>	IBC-Panamá		2		0,937 (0,044)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Trichilia tuberculata</i>	IBC-Panamá		3		1,077 (0,028)	Murawski e Hamrick (1991)
<i>Turpinia occidentalis</i>	IBC-Panamá	1993	9	1,071	1,006 (0,090)	Stacy <i>et al.</i> (1996)

^aTaxa de cruzamento aparente ou de equilíbrio; ^bEmpregando os estimadores de Cockerham (1969); ^AAlta densidade; ^BBaixa densidade; *t_s* Média das taxas de cruzamento unilocos, empregando estimador de Ritland e Jain (1981); *t_m*:Taxa de cruzamento multilocos, empregando estimador de Ritland e Jain (1981); E.P. Erro padrão; Nl número de locos empregados.

³⁰Dados não publicados, citados em "Murawski, D. A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from a canopy perspective. Manuscrito. 1995" *Apud* Lepsch-Cunha (1996).

TABELA 3: Diversidade genética em algumas espécies arbóreas tropicais.

Espécie	Np	\hat{F}_{IS}	\hat{F}_{IT}	\hat{F}_{ST}	$\hat{\theta}_P$	\hat{N}_m	Autor
<i>Alseis blackiana</i>	4	0,104	0,134	0,034			Hamrick, Murawski e Nason (1993)
<i>Apidosperma polyneuron</i>	2	-0,079	-0,013	0,061		0,98	Maltez (1997)
<i>Astrocaryum mexicanum</i>	4	-0,416	-0,358	0,039		2,4 –	Eguiarte, Perez-Nasser e Pifero (1992)
<i>Brosimum alicastrum</i>	4	0,120	0,164	0,050		9,8	Hamrick, Murawski e Nason (1993)
<i>Carapa guianensis</i>	9			0,046			Hall, Orrell e Bawa (1994)
<i>Cariniana legalis**</i>	2	-0,11	-0,05	0,053		4,1	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)
<i>Cecropia obtusifolia</i>	9	0,034	0,061	0,029		1,13	Alvarez-Buylla e Garay (1994)
<i>Cedrela Fissilis</i>	3	0,118	0,196	0,089		24,94	Gandara (1997)
<i>Chorisia speciosa</i>	4	0,115	0,278	0,183			Souza (1997)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	3				0,131	0,41	Esse trabalho
<i>Cordia trichotoma**</i>	2	0,006	0,007	0,0004		312,4	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)
<i>Cryptocarya moschata</i>	4	-0,038	0,073	0,107		1,17	Moraes (1997)
<i>Euterpe edulis</i>	8	-0,067	-0,033	0,031		10,4	Reis (1996)
<i>Genipa americana</i>	2				0,006	41,42	Sebbenn (1997)
<i>Hevea brasiliensis</i>	2	0,201	0,207	0,007			Paiva (1992); Paiva <i>et al.</i> (1994a)
<i>Johannesia princeps**</i>	2	-0,02	0,058	0,069		1,68	Herrit (1991) <i>Apud</i> Reis (1996)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	2	0,449	0,517	0,035			Moraes (1992)
<i>Ocotea tenera</i>	6	0,167	0,275	0,128		1,73	Gibson e Wheelwright (1995)
<i>Platypodium elegans</i>	3	0,092	0,138	0,051			Hamrick, Murawski e Nason (1993)
<i>Psychotria faxlucens</i>	2	0,115	0,138	0,026			Pérez-Nasser, Eguiarte e Pifero (1993)
<i>Pterocarpus macrocarpus</i>	11	0,099	0,208	0,121			Liengsiri, Yet e Boyle (1995)
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	3				0,259	0,317	Negrão (1999)
<i>Swartzia simplex var. ochracea</i>	4	0,161	0,192	0,037			Hamrick, Murawski e Nason (1993)

Np = número de populações

** empregando os estimadores de Weir e Cockerham (1984)

\hat{N}_m = quantidade de migrantes por geração

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Caracterização dos locais de estudo

Neste estudo foram amostradas três populações de *Copaifera langsdorffii* Desf., localizadas em três áreas diferentes.

O primeiro local de estudo é um fragmento florestal, que possui uma área de 5,83 ha (Figuras 2 e 4), localizado no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, o qual é também conhecido como “Matinha da UFLA”. O fragmento foi tombado como área de preservação permanente através da portaria número 212 de 01/06/92, que criou a Reserva Florestal da UFLA. A vegetação é classificada como Floresta Estacional Semidecidual Montana (floresta tropical subcadúcifolia) com dossel emergente (*Fme*), de acordo com o sistema de classificação da Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – (FIBGE, 1993). Este fragmento está localizado nas coordenadas 21° 14' 40''S. e 44° 57' 50''W., em uma altitude média de 925m.

O Tipo climático é Cwb na classificação de Köppen, com temperatura média de 19,4°C e precipitação anual média de 1530 mm. A média pluviométrica mensal na estação chuvosa (dezembro a fevereiro) é de 254 mm e na estação seca (maio a junho), é de 25 mm (DNMet, 1992). Os solos são do tipo Latossolo roxo distrófico (epialico), textura muito argilosa e relevo suave ondulado (Curi *et al.*, 1990).

De acordo com informações de antigos funcionários da UFLA, a atual Reserva Florestal não sofreu corte raso e tem aproximadamente os mesmos limites pelo menos desde a década de 1920. Contudo, a retirada de lenha e pequenas peças de madeira, bem como a abertura de trincheiras para estudos de perfis de solo foram freqüentes até 1986, quando a mata foi cercada e declarada

como área de preservação permanente. As perturbações do passado deixaram seus testemunhos na forma de uma rede de trilhas e algumas clareiras ao redor de trincheiras abandonadas. Uma descrição detalhada da área e de sua vegetação é fornecida por Oliveira Filho, Scolforo e Mello (1994).

A segunda área de estudo, também localizada no campus da UFLA, trata-se de um fragmento de Cerrado de aproximadamente 3,2 ha, conhecido como "Cerradinho da UFLA" (Figuras 2 e 4). Este fragmento florestal situa-se nas coordenadas $21^{\circ} 14' 00''$ S. e $44^{\circ} 59' 00''$ W., a uma altitude média de 920m.

O Tipo climático é Cwb na classificação de Köppen, com uma temperatura média de $19,4^{\circ}\text{C}$ e precipitação anual média de 1530 mm. A média pluviométrica mensal na estação chuvosa (dezembro a fevereiro) é de 254 mm e na estação seca (maio a junho), é de 25 mm (DNMet, 1992). Os solos são do tipo Latossolo roxo distrófico com textura muito argilosa, o relevo é suave ondulado e substrato rochas básicas (Andrade, 1979).

Não há nenhum documento no qual esteja registrado o histórico desta área, mas através de informações pessoais de antigos funcionários da UFLA, este fragmento tem sofrido constantes perturbações ao longo de vários anos. Perturbações tais como: a derrubada de árvores para evitar o contato com a rede elétrica (visto que esta sobrepõe toda a área); queimadas; retirada de lenha e peças de madeiras; abertura de trincheiras para estudos de perfis de solo e uma rede de trilhas.

Atualmente esta área é de responsabilidade do Departamento de Ciências Florestais da UFLA.

A terceira área está situada numa área sujeita a perturbação antrópica bem acentuada. De propriedade particular, está localizada à margem do rio Capivari, afluente do rio Grande, entre os municípios de Lavras e Itumirim, no Estado de Minas Gerais ($21^{\circ} 18' 00''$ S. e $44^{\circ} 53' 30''$ W.), e a uma altitude de

aproximadamente 918m). Trata-se de um fragmento de Floresta Ciliar, com uma área que abrange cerca de 14,0 ha e que se estende ao longo de um trecho do rio Capivari (Figuras 3 e 4).

Esta área tem sofrido muito com a perturbação antrópica, abertura de trilhas dentro da mata e o corte de lenhas e peças de madeiras tem sido constante. Pescadores invadem a área para chegar até o rio e, assim, promovem a degradação da mata. Segundo informações pessoais de moradores vizinhos, a mata tem sofrido uma enorme pressão por parte dos agricultores que possuem propriedades ao redor. Onde verifica-se a invasão do gado e de cavalos dentro da mata.

O tipo climático é Cwb na classificação de Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves, e estiagem de inverno) os solos são tipo Podzólicos vermelho escuro distrófico com inclusões de solos rasos (litólicos e afloramento rochosos). A precipitação e a temperatura média anual é de 1493,2 mm e 19,3°C, respectivamente, 66% da precipitação ocorrendo no período de novembro a fevereiro (Oliveira Filho, Scolforo e Mello, 1994).



FIGURA 2. Vista aérea do campus da Universidade Federal de Lavras - UFLA onde se localizam dois locais estudados. (A) Cerrado e (B) Mata Semidecidual.

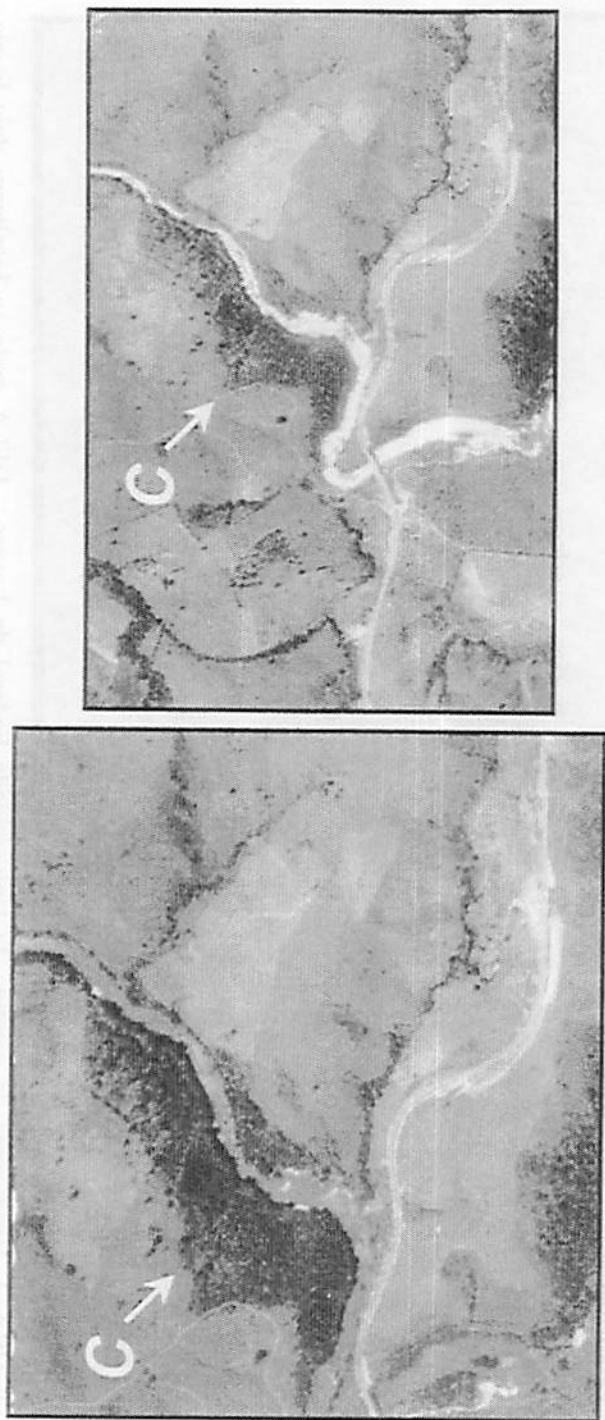


FIGURA 3. Vista aérea de um trecho do rio Capivari, onde se localiza o terceiro local estudado. (C) Mata Ciliar.

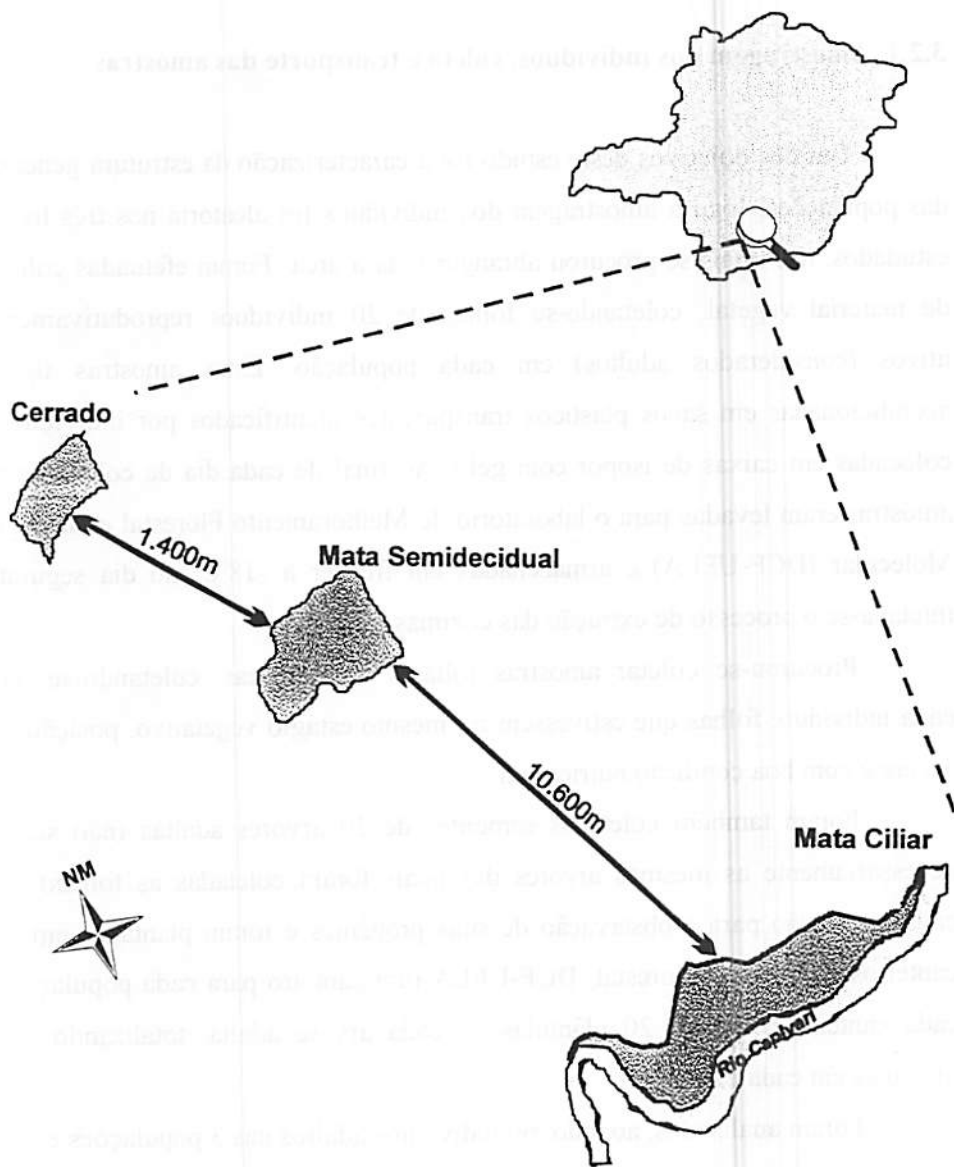


FIGURA 4. Localização das três áreas de estudo no município de Lavras - MG.

3.2 MÉTODOS

3.2.1. Amostragem dos indivíduos, coleta e transporte das amostras

Um dos objetivos deste estudo foi a caracterização da estrutura genética das populações; logo a amostragem dos indivíduos foi aleatória nos três locais estudados, nos quais se procurou abranger toda a área. Foram efetuadas coletas de material vegetal, coletando-se folhas de 20 indivíduos reprodutivamente ativos (considerados adultos) em cada população. Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos transparentes identificados por indivíduo e colocadas em caixas de isopor com gelo. Ao final de cada dia de coleta, estas amostras eram levadas para o laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular (DCF-UFLA) e armazenadas em freezer a -18°C ; no dia seguinte iniciava-se o processo de extração das enzimas.

Procurou-se coletar amostras foliares homogêneas, coletando-se, em cada indivíduo, folhas que estivessem no mesmo estágio vegetativo, posição na árvore e com boa condição nutricional.

Foram também coletadas sementes de 20 árvores adultas (não sendo necessariamente as mesmas árvores das quais foram coletadas as folhas) em cada população para a observação de suas progênes e foram plantadas em 03 canteiros no Viveiro Florestal, DCF-UFLA (um canteiro para cada população), cada canteiro contendo 20 plântulas de cada árvore adulta, totalizando 400 plântulas em cada canteiro.

Foram analisados, ao todo, 60 indivíduos adultos nas 3 populações e 400 plântulas procedentes da população da Mata Ciliar (Capivari). Não foi possível analisar o restante das plântulas das outras duas populações (Cerrado e Mata Semidecidual) por não haver tempo suficiente para efetuar as análises necessárias.

3.2.2 Procedimentos de eletroforese de isoenzimas

O método de caracterização genética da espécie usado neste trabalho foi a eletroforese de isoenzimas seguindo as técnicas mais comuns utilizadas, particularmente a metodologia descrita por Alfenas *et al.* (1991) e Alfenas (1998). Todo o trabalho de laboratório foi realizado no Laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (DCF-UFLA), Lavras-MG.

As amostras de tecido foliar foram limpas e maceradas com areia lavada, 5 mg de PVP-P e solução tampão de extração (tampão nº 1 de Alfenas *et al.*, 1991). A extração de enzimas foi realizada com bastões e placas de porcelana que foram mantidas resfriadas antes e durante o processo.

O macerado era colocado em *ependorfs* identificados por indivíduos e depois centrifugados a 10000 rpm por 10 minutos a 4°C, e com o uso de uma pipeta automática eram retirados 30µl do sobrenadante e estes eram aplicados no gel .

A eletroforese de isoenzimas utilizada foi a vertical, conduzida em meio suporte de gel de poliacrilamida no sistema descontínuo, sendo o gel de concentração a 4,0% e o gel de separação a 12,5%. Cada gel acondicionava amostras de 20 indivíduos.

A corrente elétrica permanecia constante durante a corrida eletroforética (10 mA em cada gel de concentração). Após iniciar a corrida no gel de separação, a corrente elétrica era elevada para 20mA em cada gel até o final do processo.

O tempo médio de corrida era de 3:30 horas, ao final deste período, a linha que mostra a posição das amostras no gel atingia a migração final.

Foram testados 21 sistemas enzimáticos (Tabela 4). As revelações dos géis foram baseadas na metodologia descrita por Alfenas (1998).

TABELA 4. Sistemas enzimáticos testados em *Copaifera langsdorffii* Desf.

Enzima	Sigla	Referência (E.C)
Álcool Desidrogenase	ADH	EC 1.1.1.1
Alfa-Esterase	α -EST	EC 3.1.1.1
Beta-Esterase	β -EST	EC 3.1.1.1
Beta-Galactose Desidrogenase	β -GLDH	EC 1.1.1.48
Catalase	CAT	EC 1.11.1.6
Enzima Málica	ME	EC 1.1.1.40
Fosfatase Ácida	ACP	EC 3.1.3.2
Fosfatase Alcalina	ALP	EC 3.1.3.1
Fosfoglucomutase	PGM	EC 2.7.5.1
6-Fosfogluconato Desidrogenase	6PGDH	EC 1.1.1.44
Fosfogluose Isomerase	PGI	EC 5.3.1.9
Glucose Desidrogenase	GLUDH	EC 1.1.1.47
Glucose-6-Fosfato Desidrogenase	G6PDH	EC 1.1.1.49
Glutamato Desidrogenase	GDH	EC 1.4.1.3
Glutamato-Oxaloacetato Transaminase	GOT	EC 2.6.1.1
Isocitrato Desidrogenase	IDH	EC 1.1.1.42
Leucina Aminopeptidase	LAP	EC 3.4.11.1
Malato Desidrogenase	MDH	EC 1.1.1.37
Peroxidase	PRX	EC 1.11.1.7
Sorbitol Desidrogenase	SDH	EC 1.1.1.14
Superóxido Dismutase	SOD	EC 1.15.1.1

EC = Enzyme Commission

Ao término da corrida, as placas eram retiradas da cuba e os géis removidos das placas de vidro e submetidos a coloração em enzimas específicas, até o aparecimento das bandas.

Após o surgimento das bandas, os géis foram retirados da solução de revelação, lavados em água corrente e fixados em solução aquosa de glicerol a 10%. A secagem dos géis se deu através da transparentização dos mesmos pelo método do bastidor (Alfenas *et al.*, 1991).

3.2.3 Interpretação dos zimogramas

A interpretação dos zimogramas permite a obtenção dos genótipos de cada indivíduo, tanto adultos como plântulas, possibilitando estimar vários parâmetros que caracterizam a variabilidade genética entre e dentro de populações, o fluxo gênico, o sistema de reprodução das espécies e o tamanho efetivo das populações.

Estas interpretações foram feitas logo após o término dos trabalhos de laboratório. Os géis haviam sido secados pelo método do bastidor e permaneceram arquivados.

A identificação das zonas codificadoras dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais catódica para a mais anódica. Assim, por exemplo, em um sistema enzimático em que duas bandas eram claramente identificadas, a que migrou mais no gel recebia a denominação de loco-1 e a outra banda era chamada de loco-2.

Da mesma forma procedeu-se em relação aos alelos de cada loco. A interpretação de cada sistema enzimático foi realizada seguindo os padrões descritos nos trabalhos do gênero (Weeden, 1983; Soltis e Soltis, 1989; Kephart, 1990; Alfenas *et al.*, 1991).

3.2.4 Análises dos dados

Através da interpretação dos zimogramas obtiveram-se as frequências alélicas em cada loco. A partir dessas frequências, estimaram-se os índices de diversidade (heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada segundo as expectativas do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, porcentagem de locos polimórficos e número de alelos por loco) segundo Brown e Weir (1983) e Nei (1987).

Estas estimativas de parâmetros que medem a variabilidade genética intrapopulacional foram obtidas utilizando o software BIOSYS (Swofford e Selander, 1989).

3.2.4.1 Frequências alélicas

As frequências alélicas descrevem a variação para um loco e foram obtidas pela contagem direta do número de alelos por loco, dividido pelo número total de alelos no loco:

$$\hat{P}_{ij} = n_{ij}/n_{.j}$$

onde: \hat{P}_{ij} = frequência do alelo i na população j ;

n_{ij} = número de ocorrência do alelo i na população j ;

$n_{.j}$ = número total de alelos amostrados na população j .

3.2.4.2 Variação genética intrapopulacional

A partir das frequências alélicas foram obtidos os índices de diversidade genética para adultos e plântulas, tais como: heterozigose média observada (H_o); heterozigose média esperada (\hat{H}_e), de acordo com as expectativas de

Hardy-Weinberg; número médio de alelos por loco (A); porcentagem de locos polimórficos (P) e índices de fixação de Wright (\hat{f}), estimativas obtidas a partir do programa BIOSYS, desenvolvido por Swofford e Selander (1989). O programa estima esses parâmetros da seguinte forma:

a) Heterozigosidade média observada (H_o)

A heterozigose observada para cada loco foi obtida pela expressão:

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

onde: P_{ii} = frequência dos genótipos homozigotos

Para se obter a heterozigose média observada, os valores obtidos para cada loco foram somados e divididos pelo número total de locos (tanto monomórficos como polimórficos).

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

A heterozigose para cada loco foi obtida a partir das frequências alélicas, segundo as expectativas de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1987):

$$\hat{H}_e = 1 - \sum P_i^2$$

onde: P_i = frequência alélica estimada do i -ésimo alelo.

A heterozigose média esperada foi obtida pela média aritmética entre todos os locos analisados (tanto monomórficos como polimórficos).

c) Porcentagem de locos polimórficos (P)

Um loco foi considerado polimórfico quando a frequência de seu alelo mais comum não ultrapassou 0,95. Para determinar esta medida de polimorfismo, é importante testar várias enzimas e trabalhar com amostras numericamente representativas. Desta forma, o P foi obtido pela divisão do número de locos polimórficos pelo número total de locos analisados.

$$P = \text{número de locos polimórficos} / \text{número total de locos analisados}$$

d) Número médio de alelos por loco (A)

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

$$A = \text{n}^\circ \text{ de alelos na população} / \text{n}^\circ \text{ total de locos}$$

e) Índice de Fixação de Wright (\hat{f})

O parâmetro utilizado para medir o grau de fixação gênica resultante da endogamia é o coeficiente F de Wright (1951), definido como a correlação entre os alelos nos gametas que formam um zigoto.

Os índices de fixação foram estimados ao nível de locos e média entre locos, de acordo com Vencovsky (1994), pelas relações:

$$\hat{f} = 1 - \frac{\hat{H}_o}{\hat{H}_e} \quad (\text{nível de loco});$$

$$\hat{f} = 1 - \frac{\sum \hat{H}_o}{\sum \hat{H}_e} \quad (\text{média ponderada entre locos})$$

Os índices permitem acessar os níveis de fixações alélicas por loco e ao nível de média de locos, o que informa o grau de endogamia dentro das populações. O \hat{f} também foi usado para testar os desvios das frequências genotípicas uniloco, das expectativas de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

3.2.5 Estrutura genética

A estrutura genética foi abordada a partir dos coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992). Esta metodologia foi empregada pois permite a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de calcular as estimativas com correção para tamanho populacional finito. Os coeficientes de coancestralidade foram obtidos a partir da decomposição dos componentes de variação da análise de variância das frequências alélicas, conforme Cockerham (1969). A análise de variância foi realizada com a utilização do programa GDA (Lewis e Zaykin, 2000).

Inicialmente, esta análise foi realizada considerando as três populações de adultos em conjunto. Uma nova análise foi realizada tomando as populações duas a duas, a fim de observar as divergências entre cada par de populações. As progênies foram analisadas separadamente.

Para cada alelo identificado, fez-se uma análise de variância, conforme proposto por Weir (1996) e Vencovsky (1992). Para tanto, utilizou-se a notação recomendada por esses autores, na qual a variável Y_{ij} corresponde ao alelo "i" na amostra da população "j". Quando Y_{ij} estava presente, recebeu o valor um (1), e

quando ausente, recebeu o valor zero (0). Desta forma, as análises foram feitas obedecendo ao modelo hierárquico desbalanceado.

a) Na análise considerando apenas os adultos, o modelo foi:

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

No qual:

Y_{ijk} = frequência do alelo i para o indivíduo k , da população j ;

μ = média geral;

p_j = efeito da população j , com $j = 1, \dots, n_1$;

$a_{j(k)}$ = efeito do indivíduo k , dentro da população j , com $k = 1, \dots, n_2$;

$g_{i(jk)}$ = efeito do alelo i , dentro do indivíduo k , dentro da população j ,

com $i = 1, \dots, n_3$.

As estimativas dos componentes de variância para os adultos foram obtidas pela decomposição das esperanças dos quadrados médios da análise de variância, conforme mostrado na Tabela 5. Assim, tem-se:

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

$$\hat{\sigma}_j^2 = (QM_1 - QM_G)/2$$

$$\hat{\sigma}_p^2 = (QM_P - QM_1)/K_1$$

K_1 = corresponde ao coeficiente das variâncias entre populações ($\hat{\sigma}_p^2$) no modelo hierárquico desbalanceado.

TABELA 5: Esquema da análise de variância de frequências alélicas no modelo hierárquico desbalanceado para os adultos de *Copaifera langsdorffii*.

FV	GL	QM	E(QM)
Populações	P - 1	QM _P	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2 + K_1\hat{\sigma}_P^2$
Indivíduos/populações	I - P	QM _I	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2$
Alelos/indivíduos/populações	G	QM _G	$\hat{\sigma}_G^2$
Total	n - 1		

b) Na análise envolvendo as progênes o modelo foi:

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

Em que:

Y_{ijk} = frequência do alelo i para o indivíduo k, da progênie j;

μ = média geral;

f_j = efeito da progênie j, com $j = 1, \dots, n_1$;

$a_{k(j)}$ = efeito do indivíduo k, dentro da progênie j, com $k = 1, \dots, n_2$;

$g_{i(jk)}$ = efeito do alelo i, dentro do indivíduo k, dentro da progênie j,

com $i = 1, \dots, n_3$.

As estimativas dos componentes de variância para as progênes foram obtidas pela decomposição das esperanças dos quadrados médios da análise de variância, conforme mostrado na Tabela 6. Assim, tem-se:

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

$$\hat{\sigma}_I^2 = (QM_I - QM_G)/2$$

$$\hat{\sigma}_F^2 = (QM_F - QM_I)/K_1$$

sendo:

K_1 = corresponde ao coeficiente das variâncias entre progênies ($\hat{\sigma}_F^2$) no modelo hierárquico desbalanceado.

TABELA 6: Esquema da análise de variância de frequências alélicas no modelo hierárquico desbalanceado para as progênies de *Copaifera langsdorffii*.

FV	GL	QM	E(QM)
Progênies	F - 1	QM _F	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2 + K_1\hat{\sigma}_F^2$
Indivíduos/progênies	I - F	QM _I	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2$
Alelos/indivíduos/progênies	G	QM _G	$\hat{\sigma}_G^2$
Total	n...- 1		

O significado genético destes componentes pode ser definido em termos das correlações intraclasse, ou coeficiente de coancestralidade, nos diferentes níveis de hierarquia. Assim, conforme Cockerham (1969) e Vencovsky (1992):

$$\sigma_F^2 = p (1-p) \theta_F$$

$$\sigma_I^2 = p (1-p) (F - \theta_F)$$

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

sendo:

p: frequência de um alelo em um determinado loco;

θ_F : coeficiente de parentesco ou coancestralidade das plantas dentro das progênies ou correlação entre frequências alélicas de plantas de mesma progênie;

F: correlação entre alelos de plantas de diferentes progênies, ou coeficiente de endogamia de Wright.

As estimativas dos coeficientes de coacentalidade podem, assim, ser obtidas dos componentes de variância por:

$$\hat{\theta}_F = \hat{\sigma}_F^2 / \hat{\sigma}_T^2$$

$$\hat{F} = 1 - (\hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_T^2) = (\hat{\sigma}_F^2 + \hat{\sigma}_I^2) / \hat{\sigma}_T^2$$

$$\hat{f} = (F - \hat{\theta}_F) / (1 - \hat{\theta}_F) = \hat{\sigma}_I^2 / (\hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_G^2)$$

nas quais:

\hat{f} : correlação entre alelos de plantas dentro de progênies ou coeficiente de endogamia dentro das progênies, e

$\hat{\theta}_F$: coeficiente de parentesco das plantas dentro das progênies, ou correlação entre frequências alélicas de diferentes plantas dentro das progênies, considerando a subdivisão em populações.

3.2.6 Sistema reprodutivo

O sistema reprodutivo foi inicialmente abordado pelo teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) na população. Este modelo estabelece que para uma população de tamanho infinito, com cruzamentos aleatórios, na qual não estão operando forças de seleção, mutação ou migração, a frequência relativa dos alelos não muda de uma geração para a outra (Futuyma, 1992). Se houver algum desvio das frequências observadas em relação às frequências esperadas pelo equilíbrio, este é devido a alguma violação das pressuposições ao modelo. Segundo Futuyma (1992), as discrepâncias entre uma população ideal de Hardy-Weinberg e as populações reais são os ingredientes da evolução.

Foram estimadas as taxas de cruzamentos, unilocos e multilocos. Com o objetivo de testar a adequação dos dados ao modelo multilocos, foram

comparadas as frequências alélicas dos óvulos e do pólen, óvulos e indivíduos adultos e entre as progênes, para verificar se o pólen fornecido para a formação das plântulas era homogêneo nos cruzamentos.

3.2.6.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg

A aderência dos dados da população ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testada utilizando o programa BIOSYS-1 de Swoford e Selander (1989). Este programa calcula o desvio da distribuição dos genótipos observados em relação aos esperados segundo o EHW fazendo o uso de três testes: i) o teste de qui-quadrado (χ^2) agrupado; se os valores das frequências genotípicas esperadas forem menores que 1,0, estes serão agrupados em classes, como: homozigotos para os alelos mais comuns, heterozigotos comuns/raros e homozigotos raros e outros heterozigotos, ii) χ^2 não agrupado; este utiliza todos os genótipos e iii) teste exato de Fisher.

3.2.6.2 Taxa de cruzamento

A taxa de cruzamento foi caracterizada para a população da Mata Ciliar a partir da taxa de cruzamento unilocos e multilocos, através de estimativas de máxima verossimilhança (Ritland e Jain, 1981; Ritland e El-Kassaby, 1985), com a utilização do Multilocus Mating System Program - MLTR (Ritland, 1997).

Esta taxa indica se a população está realizando autofecundação ou fecundação cruzada. Quando este valor está próximo de 1,0, isto indica que a população está realizando fecundação cruzada.

a) Taxa de cruzamento unilocos (\hat{i}_s) e multilocos (\hat{i}_m)

A taxa de cruzamento unilocos e multilocos foi obtida para as progênies da população da Mata Ciliar a partir do programa MLTR (“multilocos”) de Ritland (1997), baseado no modelo de cruzamento misto de Clegg (1980) e Ritland e Jain (1981). Este modelo assume que as plântulas resultam de uma mistura de cruzamentos aleatórios e autofecundação, cujas pressuposições são:

1. que o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento com todos os genótipos maternos;
2. que os alelos de diferentes locos segregam independentemente, e
3. que os locos não são afetados pela seleção ou mutação entre o tempo de cruzamento e a análise.

O programa permite estimar \hat{i}_s e \hat{i}_m para a população e para as progênies, bem como as frequências alélicas do óvulo e do pólen, pelo método de máxima verossimilhança, utilizando o processo numérico “Expectation-Maximization”. Para estimar o erro padrão das estimativas de cruzamento unilocos e multilocos, para a população, o programa utiliza o método “bootstrap”, no qual a unidade de amostragem foram as plantas dentro das progênies. Utilizaram-se 1000 reamostragens dentro das progênies, com base em Ritland (1997).

3.2.7 Fluxo gênico (\hat{N}_m)

As estimativas do fluxo gênico entre populações de adultos foram obtidas segundo a equação proposta por Crow e Aoki (1984), segundo a qual:

$$\hat{N}_m = [(1/\hat{G}_{st}) - 1]/4\alpha \quad \text{ou} \quad \hat{N}_m = [(1/\hat{F}_{st}) - 1]/4\alpha$$

sendo:

$$\alpha = [n/(n - 1)]^2$$

em que:

\hat{N}_m = número de migrantes;

n = número de populações.

De acordo com Cockerham e Weir (1993), o emprego de $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado do que \hat{F}_{st} ; então, utilizou-se o coeficiente de coancestralidade de Cockerham ($\hat{\theta}_p$) em substituição a \hat{F}_{st} .

Foi possível estimar também o tamanho da vizinhança (\hat{N}_b), que corresponde ao número médio de indivíduos numa área vizinha ou à área em que ocorre panmixia, para modelos contínuos, como o isolamento por distância.

As estimativas indiretas do tamanho da vizinhança seguem a relação:

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

3.2.8 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)

O tamanho efetivo populacional foi estimado a partir dos componentes de variância das frequências alélicas, para os dados de progênie e adultos, conforme Vencovsky (1992):

$$\bar{p}(1 - \bar{p}) = \hat{\sigma}_r^2$$

Na qual, para os indivíduos adultos:

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

Sendo, para as progênes:

$$\hat{\sigma}_T^2 = \frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{2\hat{N}_e} = \frac{\hat{\sigma}_F^2}{m} + \frac{\hat{\sigma}_I^2}{nm} + \frac{\hat{\sigma}_G^2}{2nm}$$

$$\hat{N}_e = \bar{p}(1-\bar{p}) / 2\hat{\sigma}_T^2$$

sendo:

$\hat{\sigma}_T^2$ = variância total;

\bar{p} = frequência alélica média;

n = número de indivíduos;

m = número de famílias;

f = coeficiente de endogamia médio da população.

Essas expressões podem servir como uma orientação para estratégias de amostragem de germoplasmas ou mesmo visando a coleta de sementes para fins de reflorestamentos, em função da grandeza observada dos componentes da variância. A escolha dos números adequados de m e n deve minimizar a variância média ($\hat{\sigma}_T^2$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sistemas enzimáticos

Dos 21 sistemas enzimáticos testados para o estabelecimento do protocolo para a espécie arbórea *Copaifera langsdorffii*, foram escolhidos os seguintes: α -EST, GOT, ACP, MDH, PO, SDH e GDH. Contudo, somente os cinco primeiros apresentaram resolução passíveis de interpretação. Nas figuras 5 e 6 são apresentados alguns zimogramas dos cinco sistemas enzimáticos encontrados nas populações estudadas. Foram analisados 115 géis, sendo 100 géis das progênes e 15 dos indivíduos adultos.

As características apresentadas por cada sistema enzimático para os tecidos foliares de *C. langsdorffii* Desf. foram:

- Alfa Esterase (α -EST) – Nesse sistema enzimático observaram-se dois locos passíveis de interpretação para as três populações estudadas, inclusive para as progênes da população da Mata Ciliar. O primeiro loco (α -Est-1) apresentou-se polimórfico, com três alelos nas populações adultas e também nas progênes. O segundo (α -Est-2) apresentou-se polimórfico, com quatro alelos para as populações do Cerrado e Mata Semidecidual e três locos para a população da Mata Ciliar e as progênes.
- Glutamato Oxaloacetato Transaminase (GOT) – Esse sistema apresentou um loco para as populações de adultos e dois locos para as progênes, sendo monomórfico para as populações do Cerrado e Mata Semidecidual com fixação do alelo 1. Para as progênes, foram observados três alelos no loco 2.

- **Fosfatase Ácida (ACP)** – Esse sistema apresentou quatro locos para todas as populações, exceto para a população da Mata Semidecidual, que apresentou apenas um loco com 2 alelos. A população do Cerrado apresentou 2 alelos para o loco um, 3 alelos para o loco dois, 2 alelos para o loco três. A população da Mata Ciliar apresentou-se monomórfica nos locos um e quatro no alelo 1, e polimórfica para os locos dois e três, verificando-se 2 alelos em cada loco. Para as progênes, foi observado um alto índice de polimorfismo, com 2 alelos no loco um e dois, e 3 no loco três.
- **Malato Desidrogenase (MDH)** – Esse sistema apresentou dois locos. O loco um teve 2 alelos na população do Cerrado e Mata Semidecidual e 3 alelos na população da Mata Ciliar e progênes. O loco dois apresentou 2 alelos para as populações da Mata Semidecidual, Mata Ciliar e para as progênes e 3 alelos para a população do Cerrado.
- **Peroxidase (PO)** – Em todas as populações, este sistema apresentou dois locos, sendo todos polimórficos. A população do Cerrado apresentou 4 alelos no loco um e 3 alelos no loco dois; já a população da Mata Semidecidual mostrou 2 alelos no loco um e 3 alelos no loco dois. Na população de adultos e progênes da Mata Ciliar, ocorreram 3 alelos no loco um e 2 alelos no loco dois.

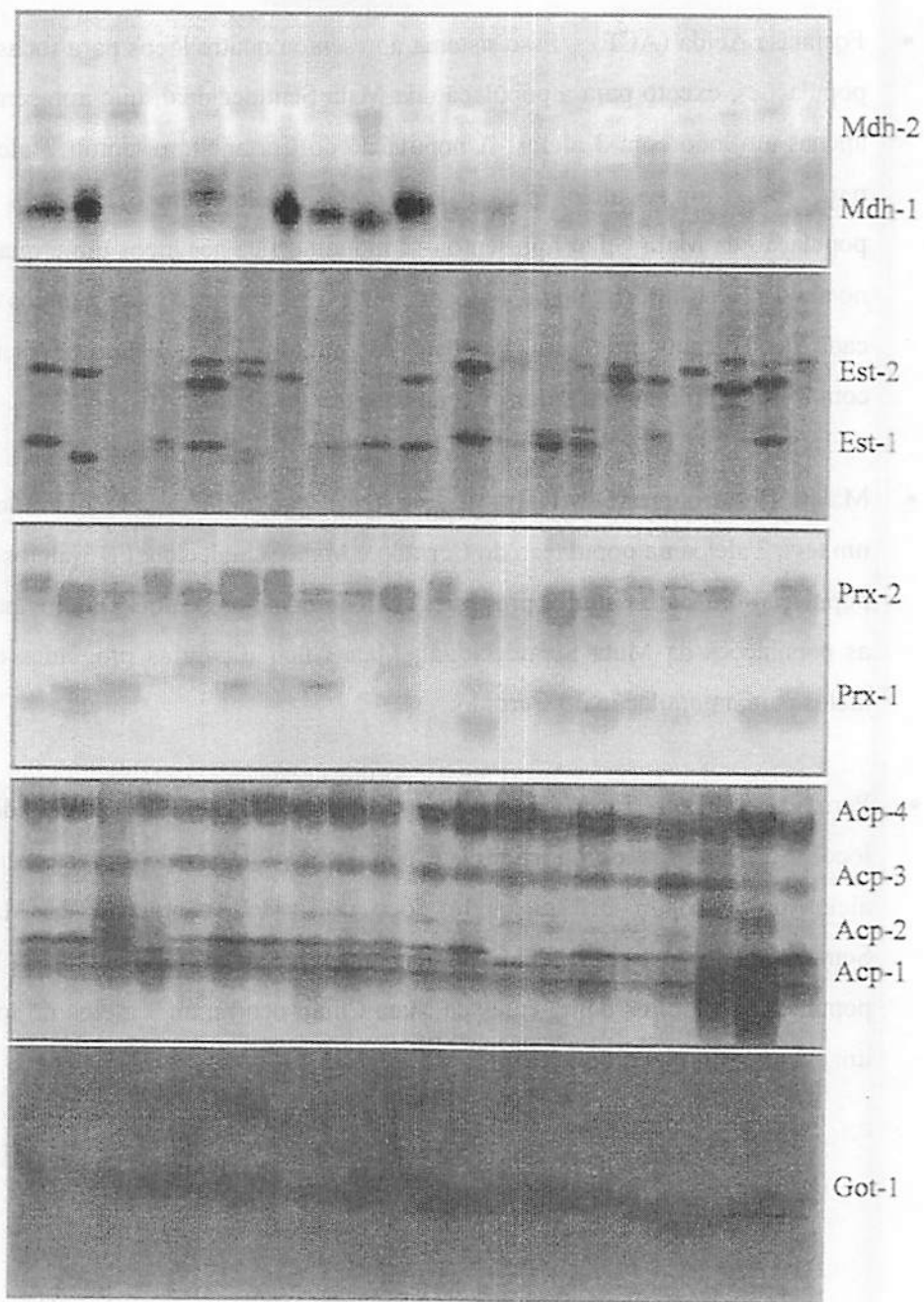


FIGURA 5. Padrões isoenzimáticos e seus respectivos locos dos sistemas MDH, EST, PRX, ACP e GOT para as populações adultas de *Copaijera langsdorffii*.

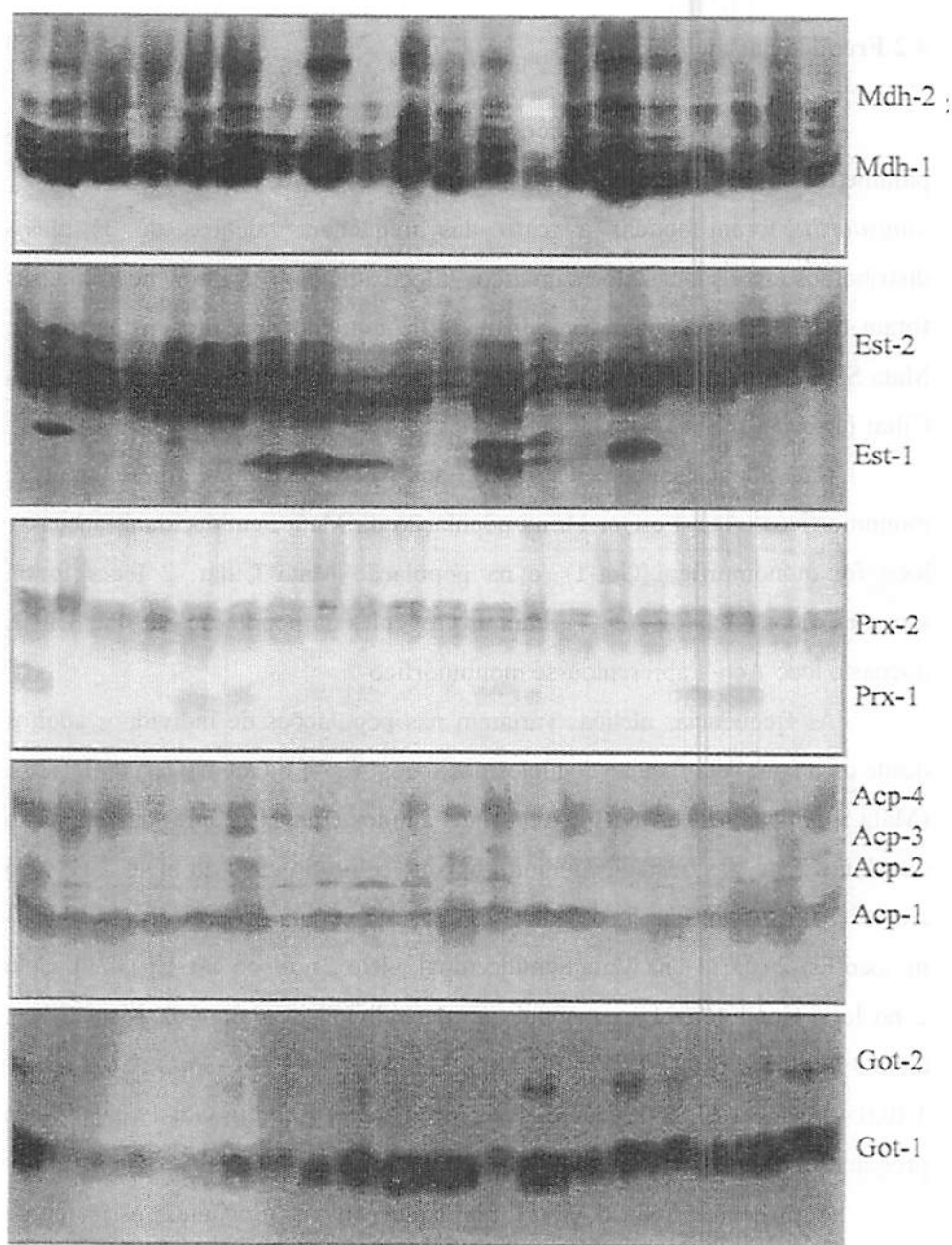


FIGURA 6. Padrões isoenzimáticos e seus respectivos locos dos sistemas MDH, EST, PRX, ACP e GOT para as progênies de *Copaifera langsdorffii* da população da Mata Ciliar.

4.2 Frequências alélicas

As estimativas dos índices de diversidade genética, assim como os parâmetros quantificadores da estrutura genética das populações de *C. langsdorffii*, foram obtidas a partir das frequências alélicas de 35 alelos distribuídos em 12 locos aloenzimáticos (aloenzímicos). As frequências alélicas foram obtidas nas 3 populações distintas de indivíduos adultos (Mata Ciliar, Mata Semidecidual e Cerrado) e para progênes oriundas da população da Mata Ciliar (Tabela 7).

Na população do Cerrado, dos 11 locos, 2 apresentaram-se monomórficos (Acp-4 e Got-1); na população da Mata Semidecidual, apenas 1 loco foi monomórfico (Got-1); e na população Mata Ciliar, 2 locos foram monomórficos (Acp-1 e Acp-4). Para as progênes da população da Mata Ciliar, apenas o loco Acp-4 apresentou-se monomórfico.

As frequências alélicas variaram nas populações de indivíduos adultos desde uma completa fixação de alelos dos locos Acp-4 e Got-1 (Cerrado), Got-1 (Mata Semidecidual) e Acp-1 e Acp-4 nos adultos e nas progênes da população da Mata Ciliar, até frequências muito baixas, como no caso do alelo 2 no loco Acp-3 (0,05), alelo 3 no loco Mdh-2 (0,075), na população do Cerrado; alelo 3 no loco Est-2 (0,033), na Mata Semidecidual; alelo 3 no loco Est-1 (0,029); alelo 2 no loco Got-1 (0,024) na população de indivíduos adultos da Mata Ciliar; alelo 3 nos locos Est-1 (0,007), Est-2 (0,031), Acp-3 (0,025), Got-2 (0,026), Prx-1 (0,054), Mdh-1 (0,024); e alelo 2 nos locos Acp-1 (0,039), Got-1 (0,013), nas progênes da Mata Ciliar.

A presença do loco Got-2 foi exclusiva nas progênes, assim como alguns alelos que só foram observados em alguns indivíduos das populações estudadas, tais como: alelo 4 no loco Est-2 e alelo 3 no loco Prx-2 (Cerrado e Mata Semidecidual), alelo 3 no loco Acp-2, alelo 4 no loco Prx-1 e alelo 3 no

loco Mdh-2 (Cerrado), alelo 2 no loco Got-1 e alelo 3 no loco Mdh-1 (Mata Ciliar e suas progênies).

Portanto, os dados dos 11 locos aloenzimáticos demonstraram que as frequências alélicas variaram tanto entre quanto dentro das populações, nas quais se verifica a existência de diferenças entre as populações adultas, tais como: a maior frequência do alelo 2 no loco Est-1 na população do cerrado e o alelo 1 na população da Mata Semidecidual e Mata Ciliar. O alelo 2 no loco Est-2 foi o mais freqüente na população do Cerrado e Mata Semidecidual e o alelo 1 na população da Mata Ciliar. O alelo 2 no loco Acp-1 foi o mais freqüente na população do Cerrado e Mata Semidecidual e o alelo 1 na população da Mata Ciliar. O alelo 1 no loco Got-1 estava fixado na população do Cerrado e Mata Semidecidual; já na população da Mata Ciliar, apresentou dois alelos. As maiores diferenças foram observadas no loco Prx-1 e Prx-2: no primeiro loco, o alelo 2 foi o mais freqüente na população do Cerrado e o alelo 1 na população da Mata Semidecidual e Mata Ciliar. Também verificou-se que a população da Mata Semidecidual não apresentou os alelos 3 e 4 e a população da Mata Ciliar não apresentou o alelo 4. No loco Prx-2, o alelo 2 foi o mais freqüente na população do Cerrado, o alelo 3 na Mata Semidecidual e o alelo 1 no Mata Ciliar. Esta variação nas frequências dos alelos mais comuns sugere que a divergência genética entre as populações é alta.

Comparando as frequências alélicas da população de adultos da Mata Ciliar com as das progênies, verificou-se que não existem muitas diferenças entre elas, sugerindo, assim, a existência de equilíbrio entre gerações.

Existe, portanto, uma coerência nas frequências alélicas quando se compara a população de adultos da Mata Ciliar com as progênies, ou seja, de modo geral o alelo mais comum nos adultos também foi o mais comum nas progênies. Observa-se, também, que as progênies apresentaram dois alelos (alelo 2 no loco Acp-1 e alelo 3 no loco Acp-3) raros que estavam ausentes nos

adultos. Isto pode ter ocorrido por dois fatores: a) variação amostral natural nos indivíduos adultos, ou seja, os 20 indivíduos adultos amostrados não foram suficientes para representar a frequência alélica de toda a população; b) devido ao fluxo gênico advindo de outras populações de *C. langsdorffii*. Esta última hipótese parece bem provável para o caso do alelo 2 no loco Acp-1, o qual apresenta uma alta frequência nas populações do Cerrado e da Mata Semidecidual e é fixado na população da Mata Ciliar.

As oscilações nas frequências alélicas, perdas e fixação de alelos, podem ser um indicativo de deriva genética ou de seleção. As oscilações se desenvolvem por meio de processos aleatórios, quando não existem mecanismos de seleção natural. No caso das localidades estudadas, que se encontram em ambientes diferentes, com variações ambientais distintas, tanto a deriva genética como a seleção natural podem estar influenciando o resultado nas oscilações das frequências alélicas para *C. langsdorffii*. No caso da seleção, o efeito poderia ser tanto de natureza direta, uma vez que as aloenzimas participam de rotas metabólicas que afetam características sujeitas à seleção, como de natureza indireta, se os locos aloenzimáticos estiverem ligados a genes controladores daquelas características.

A análise das frequências alélicas é de grande importância, pois pode refletir melhor os efeitos estocásticos do que a maioria dos parâmetros utilizados no estudo de genética de populações, uma vez que estes não refletem diretamente frequências alélicas eventualmente muito baixas.

Para a espécie arbórea *Chorisia speciosa*, Souza (1997) concluiu que os parâmetros genéticos que medem a diversidade genética (H_e , H_o , P , A e F_{IS}) não refletiram a perda de alelos, não sendo, desta forma, bons indicadores de deriva genética. A perda, neste estudo, foi evidenciada a partir da análise direta das frequências alélicas.

TABELA 7: Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) em 11 locos aloenzimáticos em três populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf.

Loco	Alelo	Populações			
		Cerrado	Mata Semidecidual	Mata Ciliar	Progênes
		Adultos	Adultos	Adultos	
				†	
α-Est-1	1	0,342	0,500	0,529	0,362
	2	0,579	0,400	0,441	0,631
	3	0,079	0,100	0,029	0,007
	n	19	10	17	290
α-Est-2	1	0,132	0,367	0,464	0,457
	2	0,447	0,467	0,286	0,512
	3	0,316	0,133	0,250	0,031
	4	0,105	0,033	0,000	0,000
n	19	15	28	383	
Acp-1	1	0,325	0,143	1,000	0,961
	2	0,675	0,857	0,000	0,039
	n	20	14	13	382
Acp-2	1	0,447	0,000	0,654	0,658
	2	0,500	0,000	0,346	0,342
	3	0,053	0,000	0,000	0,000
	n	19	00	13	360
Acp-3	1	0,950	0,000	0,769	0,676
	2	0,050	0,000	0,231	0,299
	3	-	-	-	0,025
	n	20	00	13	276
Acp-4	1	1,000	0,000	1,000	1,000
	2	-	-	-	-
	n	20	00	13	395
Got-1	1	1,000	1,000	0,976	0,987
	2	0,000	0,000	0,024	0,013
	n	20	16	21	356
Got-2	1	-	-	-	0,777
	2	-	-	-	0,196
	3	-	-	-	0,026
	n	-	-	-	191
Prx-1	1	0,188	0,722	0,485	0,478
	2	0,406	0,278	0,409	0,468
	3	0,219	0,000	0,106	0,054
	4	0,188	0,000	0,000	0,000
	n	16	09	33	231
Prx-2	1	0,175	0,175	0,577	0,556
	2	0,575	0,300	0,423	0,444
	3	0,250	0,525	0,000	0,000
	n	20	20	13	360
Mdh-1	1	0,775	0,425	0,464	0,564
	2	0,225	0,575	0,304	0,412
	3	0,000	0,000	0,232	0,024
	n	20	20	28	373
Mdh-2	1	0,400	0,286	0,500	0,547
	2	0,525	0,714	0,500	0,453
	3	0,075	0,000	0,000	0,000
	n	20	14	13	320
Totais de Alelos	35	28	19	24	29

4.3 Estrutura genética

A Tabela 8 apresenta os coeficientes de coancestralidade de Cockerham para as três populações adultas e para uma progênie de *C. langsdorffii*: os parâmetros \hat{f} (mede a fixação de alelos ou a endogamia média dentro das populações), \hat{F} (mede a fixação de alelos ou a endogamia para o conjunto das populações) e $\hat{\theta}_p$ (mede a divergência genética entre populações). Estes parâmetros correspondem, respectivamente, às estimativas de \hat{F}_{IS} , \hat{F}_{IT} , \hat{F}_{ST} , de Wright.

As estimativas médias obtidas mostram endogamia para o conjunto das populações adultas ($\hat{F} = 0,130$) e uma tendência de excesso de heterozigotos para as progênies ($\hat{F} = -0,033$). As estimativas médias dentro das populações de adultos (\hat{f}) mostram baixa endogamia (-0,001); isto sugere que, em média, as populações não são endogâmicas; portanto, suas proporções genotípicas encontram-se em EHW. No entanto, o \hat{F} mostra que o conjunto das populações não encontra-se em EHW, não são panmíticas, tendo, portanto, endogamia devido a efeitos da deriva genética e sistema reprodutivo.

A análise da estrutura genética intrapopulacional das progênies ($\hat{\theta}_F$), revela que 16 % da variabilidade genética encontram-se entre progênies e 84% entre indivíduos dentro de progênies. Em progênies de meio-irmãos, espera-se que este valor seja de, no mínimo, 0,125; em progênies de irmãos completos, 0,250, e em progênies S_1 (autofecundação – uma geração), 0,5. Assim, o valor observado de 0,163 indica que as progênies não são compostas exclusivamente de meio-irmãos, sendo também constituídas por indivíduos irmãos completos e/ou indivíduos de autofecundação, logicamente em menor proporção que os meio-irmãos. Isto sugere que os cruzamentos não ocorreram de forma totalmente

aleatória, podendo ter ocorrido cruzamentos preferenciais (irmãos completos e/ou autofecundação).

TABELA 8: Coeficiente de coancestralidade entre três populações de adultos e de uma progênie de *Copaifera langsdorffii* Desf.

	Loco	$\hat{\theta}_P$	$\hat{\theta}_F$	\hat{F}	\hat{f}
Adultos	AES-1	-0,011	-	0,223	0,231
	AES-2	0,052	-	0,012	-0,042
	ACP-1	0,500	-	0,782	0,565
	ACP-2	0,020	-	0,210	0,194
	ACP-3	0,148	-	0,083	-0,076
	ACP-4	***	-	***	***
	GOT-1	-0,008	-	-0,003	0,005
	PRX-1	0,087	-	0,105	0,020
	PRX-2	0,195	-	0,059	-0,168
	MDH-1	0,109	-	-0,279	-0,435
	MDH-2	0,056	-	-0,056	-0,119
		Média	0,131 [0,049 a 0,240]		0,130 [-0,034 a 0,330]
Progênies	AES-1	-	0,099	-0,002	-0,111
	AES-2	-	0,123	-0,114	-0,272
	ACP-1	-	0,649	0,531	-0,336
	ACP-2	-	0,359	0,193	-0,259
	ACP-3	-	0,251	0,214	-0,050
	ACP-4	-	-0,001	-0,000	0,001
	GOT-1	-	0,104	-0,007	-0,122
	GOT-2	-	0,080	-0,274	-0,385
	PRX-1	-	0,183	0,129	-0,066
	PRX-2	-	0,097	-0,133	-0,254
	MDH-1	-	0,127	-0,053	-0,206
	MDH-2	-	0,076	-0,364	-0,475
	Média		0,163 [0,111 a 0,230]	-0,033 [-0,156 a 0,085]	-0,234 [-0,325 a 0,147]

Valores entre colchetes correspondem aos intervalos de confiança com 95% de probabilidade

A divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) foi alta (0,131), isto significa que 13% da variabilidade genética encontram-se entre as populações e que 87% desta variabilidade encontram-se dentro das populações. Esta divergência já era esperada, dadas as diferenças detectadas nas frequências alélicas entre populações. A maioria das espécies arbóreas tropicais apresenta menos de 5% de divergência genética entre populações. No entanto, neste estudo encontrou-se uma divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) acima deste valor (13%), sendo que este valor se encontra de acordo com o observado em outras espécies, ou seja, a maior proporção da variabilidade genética encontra-se dentro das populações.

Os valores de $\hat{\theta}_p$ raramente atinge valores altos. Na maioria das espécies ele se encontra na faixa de 3%; porém, a heterogeneidade entre os locos reflete num desvio padrão alto.

Ciampi (1999), trabalhando com dados de marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e microsátélites (SSR – Sequências Simples Repetidas), verificou que a maior parte da variabilidade genética em *C. langsdorffii*, da ordem de 90%, estão contidos dentro de populações, e cerca de 10% estão entre populações.

O padrão de organização da variação genética observado para *C. langsdorffii* é o comumente encontrado em espécies arbóreas tropicais, que possuem alta variação genética dentro e baixa entre populações. Entretanto, há casos em que são encontrados altos níveis de $\hat{\theta}_p$, como em *Chorisia speciosa* (Souza, 1997); *Cryptocarya moschata* (Moraes, 1997 e Negrão, 1999). A Tabela 3 mostra alguns exemplos de valores de divergência genética para espécies arbóreas tropicais.

A *Copaifera langsdorffii* apresenta, assim, um valor de divergência genética interpopulacional que está entre os maiores entre espécies arbóreas

tropicais. A alta divergência genética entre populações, estimada por \hat{f} , e o baixo endocruzamento dentro de populações encontrado para a espécie em estudo estão de acordo com a ação de deriva genética, já que são conseqüências importantes deste evento aleatório (Futuyma, 1992). Sendo aleatória, a deriva pode levar cada população a possuir uma frequência alélica diferente das demais, e assim causar uma grande divergência genética entre as populações. Desta maneira, a alta divergência encontrada entre as populações indica a atuação de deriva na estrutura genética das populações de *C. langsdorffii* estudadas.

Souza (1997) sugeriu a associação de altos índices de \hat{F} com a ação de deriva genética em *Chorisia speciosa*, estudada em fragmentos florestais no interior do Estado de São Paulo. A associação entre altos níveis de variação interpopulacional e baixos níveis de variação intrapopulacional com deriva genética em espécies arbóreas já foi verificada por vários autores (Moran e Hopper, 1983; Peters, Lonie e Moran, 1990; Kitamura e Rahman, 1992; Rocha e Lobo, 1996; Ge *et al.*, 1998).

A divergência entre as populações pode ser o resultado do processo de fragmentação levando à deriva genética. Contudo, considerando a longevidade do ciclo de vida da espécie e as diferenças nos ambientes, esta divergência pode, provavelmente, ser também o resultado de seleção.

Para as progênies, o valor de \hat{f} (-0,234) mostra a presença de excessos de heterozigotos dentro das progênies em relação ao EHW. Contudo, o \hat{F} (-0,033) sugere, para o conjunto das progênies, ou seja, para a população, que não existe endogamia e esta população encontra-se nas proporções do EHW.

O valor médio de \hat{f} (-0,001) encontrado para as 3 populações em conjunto é explicado pelo fato de que a população do Cerrado apresentou excesso de homozigotos (0,239), enquanto a população da Mata Ciliar

apresentou excesso de heterozigotos (-0,203) (Tabela 10), resultando em um valor médio negativo.

Os resultados de $\hat{\theta}_p$ e $\hat{\theta}_f$, obtidos para *C. langsdorffi*, no presente estudo, mostram uma divergência elevada na maioria dos locos, tanto nos adultos como nas progênies, apresentando valores negativos em alguns locos. Portanto, ao considerar os intervalos de confiança correspondentes, deve-se observar que as estimativas \hat{f} e \hat{F} não foram estatisticamente diferentes de zero. Estes resultados sugerem que de fato ocorre uma estrutura de populações definida (uma diferenciação em relação a uma população ancestral de referência), mas não existe endogamia significativa considerando as populações como um todo.

Esta divergência populacional encontrada, entretanto, não foi ocasionada igualmente por todas as populações. Isto pode ser observado pela análise da estrutura genética, tomando duas populações de cada vez (Tabela 9).

TABELA 9: Coeficiente de coancestralidade tomando as populações duas a duas.

Populações	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$
Cerrado e Mata Semidecidual	0,173 (-0,049 a 0,353)	0,234 (0,046 a 0,398)	0,073 (0,014 a 0,132)
Cerrado e Mata Ciliar	-0,015 (-0,132 a 0,107)	0,129 (-0,017 a 0,320)	0,142 (0,048 a 0,273)
Mata Semidecidual e Mata Ciliar	-0,119 (-0,280 a 0,078)	0,062 (-0,182 a 0,373)	0,162 (0,017 a 0,342)

\hat{f} : coeficiente de endogamia dentro das populações. \hat{F} : coeficiente de endogamia para o total das populações. $\hat{\theta}_p$: divergência genética entre populações. Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança obtido a partir de 10.000 *bootstrapping*.

Pode se observar que as populações do Cerrado-Mata Ciliar e Mata Semidecidual-Mata Ciliar apresentaram valores altos de $\hat{\theta}_p$ (0,142 e 0,162) comparativamente às populações do Cerrado-Mata Semidecidual (0,073).

Isto indica que as populações do Cerrado e Mata Semidecidual são mais similares entre si e divergentes da população da Mata Ciliar. Isto é coerente, visto que estas duas populações se encontram geograficamente mais próximas (aproximadamente 1400m). Esta baixa divergência e a localização geográfica próxima indica que estas populações são ligadas por intermédio de polinizadores e sugere que foram originárias de uma população ancestral comum. No passado, possivelmente estas constituíam uma única população, que através dos processos de fragmentações, deu origem a estas populações distintas.

O desdobramento da estrutura genética também indica que o excesso de heterozigotos dentro das populações (\hat{f}) na análise conjunta de todas as populações ocorreu em consequência da população da Mata Ciliar, dado que o valor de \hat{f} só foi negativo quando esta população estava sob comparação, sugerindo que a alta divergência genética entre as três localidades ocorreu devido a um efeito combinado de deriva genética e seleção, ou seja, a população da Mata Ciliar estaria sofrendo seleção para heterozigotos e as populações Cerrado e Mata Semidecidual teriam divergido entre si por deriva genética. Esta hipótese baseia-se no fato de que a deriva gera endogamia e a seleção pode gerar tanto aumento de homozigotos como heterozigotos, sendo, neste caso, seleção para heterozigotos.

Entre os vários fatores causadores da endogamia citados na literatura, Moraes (1992) cita o efeito "gargalo". Por causa desse efeito, a heterozigosidade média no começo é baixa, tendendo a subir à medida que a população aumenta. Para as populações estudadas na Mata Atlântica e no Cerrado, uma das conclusões foi a de que os indivíduos remanescentes de derrubadas de florestas

primárias teriam iniciado a nova colonização da aroeira (*Myracrodruon urundeuva*. Freire Allemão), acarretando baixos valores de heterozigosidade média e altos coeficientes de endogamia. Em nosso estudo, isto provavelmente pode estar ocorrendo, uma vez que estes fragmentos sofreram com a exploração dos recursos florestais; portanto, a divergência genética possivelmente seria devida ao efeito fundador e fragmentação.

Pode-se analisar a estrutura populacional na ausência ou presença de fluxo gênico atual. Se houver fluxo gênico corrente, ele deve estar ocorrendo entre as populações Cerrado-Mata Semidecidual, uma vez que estas possuem baixo $\hat{\theta}_p$, e ocorrendo de uma maneira intermediária entre as populações Cerrado-Mata Ciliar e entre Mata Semidecidual-Mata Ciliar, que possuem uma maior divergência.

O fluxo gênico estaria encontrando barreiras entre estas populações. Na ausência de fluxo gênico atual, pode-se considerar que estas populações se formaram possivelmente a partir de uma população ancestral comum, contudo a partir de diferentes eventos de fundação.

As populações, no presente estudo, apresentaram variação genética dentro média e pequena entre populações, o que é bastante coerente, pois, segundo Loveless e Hamrick (1984), as espécies tipicamente alógamas apresentam alta variação genética dentro e pequena entre populações; no entanto, a divergência entre populações é reduzida de acordo com o aumento do fluxo gênico (pólen e/ou sementes).

4.4 Variabilidade genética intrapopulacional

A porcentagem de locos polimórficos variou de 81,8% para o Cerrado e de 87,5% para a Mata Semidecidual até 72,7% para a população adulta da Mata Ciliar, sendo que, para as progênes, este valor foi 75,0% (Tabela 10).

Comparando-se a porcentagem de locos polimórficos encontrado em *C. langsdorffii* com duas espécies arbóreas tropicais comuns, *Alseis blackiana* (89,3%) e *Psychotria horizontalis* (49,5%), estudadas por Hamrick e Loveless (1986a), observaram-se valores pouco inferiores aos da primeira espécie e muito superiores aos da segunda. A análise da porcentagem de locos polimórficos mostra que *C. langsdorffii* apresenta um alto polimorfismo, o que torna estas populações favoráveis à conservação genética.

Em relação ao número de alelos por loco, houve valores médios iguais a 2,5 (Cerrado), 2,4 (Mata Semidecidual), 2,2 (Mata Ciliar) e 2,5 (Progênes da Mata Ciliar), valores não diferentes entre si, a julgar pelo desvio padrão.

As heterozigosidades médias observadas nas populações de *C. langsdorffii* do Cerrado, Mata Semidecidual e Mata Ciliar foram, respectivamente, 0,321, 0,421 e 0,483, e para as progênes da Mata Ciliar, 0,390. As heterozigosidades médias esperadas foram: 0,420, 0,435, 0,396 e 0,368, (Tabela 10), evidenciando uma tendência de excesso de homozigotos em relação ao EHW para as populações do Cerrado e Mata Semidecidual e de heterozigotos para a população da Mata Ciliar, o que pode ser melhor visualizado pelos valores do índice de fixação [$f = 1 - (Ho/He)$]. Para os indivíduos adultos da população do Cerrado, Mata Semidecidual e Mata Ciliar, estes valores foram 0,239, 0,063 e -0,203, respectivamente, e para as progênes da Mata Ciliar, -0,033 (Tabela 10).

Estes valores estão de acordo com a maioria dos trabalhos com espécies arbóreas tropicais e reforçam o fato de se encontrar uma maior fixação de alelos em progênes, o que repercute em um menor polimorfismo.

Verifica-se que as heterozigosidades (Ho e He) foram altas ($>0,30$) quando comparadas com a maioria dos trabalhos com espécies arbóreas, tanto tropicais como temperadas, mostrando um padrão típico de uma espécie alógama de alta densidade (espécie comum). O desvio padrão destas estimativas

sugere que não existem diferenças entre as populações para estes parâmetros. Da mesma forma, o número médio de alelos por loco foi similar entre as populações. Contudo, a porcentagem de locos polimórficos demonstra que as populações do Cerrado e Mata Semidecidual apresentam uma maior variabilidade entre os locos, ou seja, há mais locos polimórficos do que na população da Mata Ciliar.

Comparando adultos e progênies da Mata Ciliar, verifica-se similaridade para os índices de diversidade, porém com a tendência de aumento da heteroziguidade entre a fase de plântulas e a fase adulta. Esta é uma tendência também observada na maioria dos trabalhos com espécies arbóreas tropicais (Tabela 1).

Existe uma tendência de a heteroziguidade alcançar maiores valores em indivíduos adultos, sugerindo um mecanismo seletivo atuando em favor dos heterozigotos. Esta tendência foi observada em vários trabalhos, como o de Hamrick, Murawski e Nason (1993) estudando 3 espécies arbóreas tropicais. Resultados desse tipo também foram encontrados para outras espécies arbóreas tropicais, como *Cecropia obtusifolia* (Alvarez-Buylla e Garay, 1994), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997) e *Euterpe edulis* (Reis, 1996).

O desvio padrão de (A) sugere que não existem diferenças entre adultos e progênies, mas verifica-se um aumento no número de alelos nas progênies, o que pode ter ocorrido por migração (fluxo gênico) ou por problemas amostrais na fase adulta, na qual os 20 indivíduos amostrados possivelmente não estejam representando todas as variações alélicas presentes nesta população.

O índice de fixação, ou coeficiente de endogamia de cada população, foi positivo e alto para a população do Cerrado (0,239), baixo para a Mata Semidecidual (0,063) e negativo e alto para a população da Mata Ciliar (-0,203),

sugerindo alta endogamia na primeira população, proporções do EHW na segunda e seleção para heterozigotos na terceira.

TABELA 10: Índices de diversidade genética de três populações naturais de *Copaifera langsdorffii*. Desf. na Região de Lavras-MG, baseados em 11 locos e 5 sistemas enzimáticos (indivíduos adultos) e 12 locos e 5 sistemas enzimáticos (progênies da população da Mata Ciliar).

Índices de Diversidade Genética	POPULAÇÕES			
	Cerrado	Mata Semidecidual	Mata Ciliar	
	Adultos	Adultos	Adultos	Progênies
Heterozigosidade média observada (\hat{H}_o)	0,321 (0,064)	0,421 (0,110)	0,483 (0,103)	0,390 (0,069)
Heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e)	0,420 (0,081)	0,435 (0,078)	0,396 (0,077)	0,368 (0,060)
Porcentagem de locos polimórficos* (0,95) (P)	81,8	87,5	72,7	75,0
Índice de Fixação (f)	0,239 [0,087 a 0,374]	0,063 [-0,307 a 0,413]	-0,203 [-0,334 a -0,033]	-0,033 [-0,155 a 0,085]
Número médio de alelos por locos (A)	2,5 (0,30)	2,4 (0,30)	2,2 (0,20)	2,5 (0,20)
Tamanho médio da amostra por locos (n)	19,4 (0,40)	14,8 (1,40)	18,6 (2,30)	326,4 (19,0)

* Um loco é considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não exceder a 0,95 de probabilidade; os valores entre parênteses correspondem aos desvios padrão e entre colchetes aos intervalos de confiança.

Possivelmente, a causa seja deriva genética devido ao efeito fundador e seleção para ambientes específicos. Considerando a neutralidade do marcador isoenzimático, pode-se atribuir o excesso de heterozigotos na população da Mata Ciliar a uma possível ligação dos locos isoenzimáticos a locos de efeito adaptativo.

Espécies comuns geralmente apresentam maiores níveis de variabilidade genética do que espécies raras. A *C. langsdorffii* é uma espécie comum na região de Lavras-MG, ajustando-se, então, a esta predição.

Comparando-se \hat{H}_e , obtido para as populações adultas de *C. langsdorffii*, com os encontrados em espécies vegetais, 0,141 (Hamrick, 1979), em populações de espécies arbóreas, 0,149, e espécies arbóreas tropicais, 0,109 (Hamrick e Godt, 1989), observa-se a grande superioridade nos valores encontrados. Todavia, quando se compara \hat{H}_e com a média de 16 espécies arbóreas tropicais comuns, 0,211 (Hamrick e Lovelless, 1989), com espécies arbóreas tropicais de alta densidade, da família Rubiaceae, 0,374 (*Alseis blachiana*), e valores encontrados por Reis (1996), 0,452 (*Euterpe edulis*) (Tabela 1), observa-se que a heterozigosidade da *C. langsdorffii* foi bem superior à encontrada para as 16 espécies arbóreas tropicais comuns, pouco superior à encontrada para a segunda espécie e próxima à encontrada para a terceira espécie.

No entanto, comparando-se \hat{H}_o dos adultos, relativamente à encontrada por Hill *et al.* (1978) para três espécies arbóreas ribeirinhas amazônicas, 0,100 a 0,425 para *Aeschynomene sensitiva* Sw. Var. *amazonica* Rudd., 0,184 a 0,364 para *Aeschynomene sensitiva* Sw. Var. *sensitiva* Rudd e 0,333 a 0,460 para *Mimosa pigra* L., observaram-se valores médios semelhantes aos encontrados para *C. langsdorffii*.

Ciampi (1999), trabalhando com *C. langsdorffii* analisou oito locos SSR e observou valores de diversidade genética ($\hat{H}e = 0,88$ e $\hat{H}o = 0,89$) quatro a doze vezes superiores aos obtidos com isoenzimas em diferentes espécies arbóreas relatadas por Sheely e Meagher (1996) e Loveless, Hamrick e Foster (1998). Comparações entre estimativas de diversidade obtidas com isoenzimas e com microsátélites tornam-se, entretanto, de difícil avaliação, tendo em vista a diferença fundamental na natureza da seqüência amostrada do DNA, pois isoenzimas são seqüências codificantes e microsátélites são regiões não codificantes e sujeitas a altas taxas de mutação pela sua estrutura (Ciampi, 1999).

Hill *et al.* (1978) também observaram que as populações localizadas ao longo das margens dos rios quase sempre apresentavam níveis mais altos de heterozigidade do que as localizadas distantes, atribuindo essa característica à dispersão hidrocórica. No caso da *C. langsdorffii*, sendo a dispersão também hidrocórica (Carvalho, 1994), e a população da Mata Ciliar encontrando-se às margens do rio Capivari, esta apresentou um valor de $\hat{H}o$ superior às outras duas populações estudadas, sugerindo que isto se deva à dispersão hidrocórica. Seria interessante complementar seu estudo através da avaliação de outras populações ao longo do rio Capivari, objetivando detectar a extensão do fluxo gênico pela água.

Os resultados mostram que não existem diferenças significativas para $\hat{H}o$; $\hat{H}e$ e A entre populações, e que os parâmetros $\hat{H}o$ e $\hat{H}e$ revelam que a espécie apresenta altos níveis de heterozigidade se comparada com a média das espécies florestais.

4.5 Sistema reprodutivo

4.5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O EHW é baseado em premissas de cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, deriva genética, seleção e tamanho infinito das populações (Metter e Gregg, 1973; Futuyma, 1992). Devido à pressuposição de cruzamentos aleatórios, a avaliação da existência de EHW nas populações pode ser uma forma inicial de abordar o sistema reprodutivo das espécies (Reis, 1996).

O teste de EHW só pode ser verificado quando se trabalha com mais de uma geração, como é o caso da população da Mata Ciliar onde têm-se os adultos e as progênes. Nas demais populações, pode-se apenas verificar o ajuste das proporções genóticas ao modelo de EHW. Isto acontece porque o EHW prediz ausência de alterações nas frequências gênicas e genóticas na ausência de fatores evolutivos (deriva genética, mutação, seleção e migração), populações grandes e de cruzamentos aleatórios.

Os indivíduos adultos e as plântulas da população de *C. langsdorffii* foram submetidas ao teste de EHW (Tabela 11). O teste exato de Fisher (P) foi priorizado, pois o número de genótipos esperados (ne) foi inferior a 1,00 na análise convencional de qui-quadrado (X^2). Os testes exatos são geralmente usados para tamanhos amostrais pequenos, quando há uma maior chance de ter números esperados pequenos no teste X^2 (Weir, 1996). Conforme este autor, mesmo em amostras moderadamente grandes, a existência de alelos raros no loco resulta em números esperados pequenos; nesse caso, os testes exatos são preferíveis. Segundo Gomes (1990), o teste X^2 não deve ser usado quando a frequência esperada mínima for < 1 e quando não mais de 20% das frequências esperadas forem < 5 , pois o valor do X^2 resultante será viesado e não pode ser legitimamente comparado com os valores na tabela de distribuição (Zar, 1984).

Quando essas regras não se aplicam, o teste exato de Fisher deve ser empregado por ser menos restritivo em relação às frequências esperadas (Siegel, 1956).

TABELA 11: Probabilidades do teste exato de Fisher para hipótese do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, para as três populações adultas e a progênie de *Copaifera langsdorffii*.

Loco	P (Fisher)			
	Cerrado	ADULTOS		PROGÊNIES
		Mata Semidecidual	Mata Ciliar	Mata Ciliar
α -est1	0,017*	0,564 ^{ns}	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}
α -est2	0,060 ^{ns}	0,604 ^{ns}	0,000**	0,004**
Acp1	0,350 ^{ns}	0,004**	—	0,000**
Acp2	0,356 ^{ns}	—	0,578 ^{ns}	0,001**
Acp3	1,000 ^{ns}	—	1,000 ^{ns}	0,029*
Acp4	—	—	—	1,000 ^{ns}
Got1	—	—	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}
Got2	—	—	—	0,000**
Ptx1	0,031 ^{ns}	0,941 ^{ns}	0,002**	0,065 ^{ns}
Ptx2	0,204 ^{ns}	0,367 ^{ns}	0,275 ^{ns}	0,025*
Mdh1	1,000 ^{ns}	0,002**	0,006**	0,001**
Mdh2	1,000 ^{ns}	0,505 ^{ns}	0,300 ^{ns}	0,000**

* P < 0,05 ** P < 0,01 ns = não significativo

O teste exato de Fisher, para as populações adultas e progênies, detectam desvios significativos do modelo em 11,1% (Cerrado), 28,6% (Mata Semidecidual), 33,3% (Mata Ciliar) e 66,7% (Progênies da Mata Ciliar). A não aderência dos locos foi devida ao déficit de heterozigotos observados em relação ao número de heterozigotos esperados pelo modelo.

Analisando os dados da Tabela 11, verifica-se que a maioria dos locos para os adultos encontram-se nas proporções do EHW, sugerindo que as populações foram geradas por cruzamentos aleatórios. Entretanto, para a população da Mata Ciliar, verifica-se que as progênies estão fora do EHW para a maioria dos locos. Neste caso, têm-se indivíduos adultos em EHW gerando progênies fora do EHW, devido a desvios de cruzamentos aleatórios e/ou algum fator evolutivo. Por exemplo, já foram detectados indícios de migração (alelos presentes nas progênies e ausentes nos adultos), seleção para heterozigotos e que as progênies não são exclusivamente de meio-irmãos ($\hat{\theta}_F = 0,163$), logo os cruzamentos não foram totalmente aleatórios.

4.5.2 Taxa de cruzamento multilocos, unilocos e de autofecundação

O sistema de reprodução foi avaliado apenas para as progênies da população da Mata Ciliar.

A Tabela 12 mostra a caracterização da taxa de cruzamento por progênie (t), taxa de cruzamento multilocos (\hat{i}_m) e unilocos (\hat{i}_s) para a população da Mata Ciliar. A \hat{i}_m e \hat{i}_s foram obtidas a partir da estimativa de máxima verossimilhança (Ritland e Jain, 1981), pelo programa MLTR de Ritland (1990). Diferenças positivas entre \hat{i}_m e \hat{i}_s ($\hat{i}_m - \hat{i}_s$) permitem obter a taxa de cruzamento entre aparentados (Shaw e Allard, 1982; Ritland e El-Kassaby, 1985; Ritland, 1990) e diferenças positivas entre \hat{i}_m e 1 ($1 - \hat{i}_m$) permitem obter a taxa de autofecundação (\hat{s}) na população (Ritland, 1990).

O modelo multilocos permite obter a proporção de cruzamentos endogâmicos devido ao fato de \hat{i}_s ser obtida separadamente loco a loco; portanto, através de menos informações sobre frequências gênicas de pólen e

óvulos do que da estimativa multilocos que considera simultaneamente vários locos no cálculo da taxa de cruzamento. A taxa de multilocos tem mais recursos para separar sementes originadas de cruzamentos da autofecundação, visto que os casos duvidosos de um loco são esclarecidos por outros locos. A taxa unilocos confunde, muitas vezes, cruzamentos entre aparentados com autofecundação e/ou apomixia; nestes casos, subestima a taxa de cruzamento e superestima a taxa de autofecundação.

A estimativa de \hat{i}_m foi obtida a partir de 20 progênies avaliadas na população (Tabela 12). A \hat{i}_m estimada foi de 0,917 (0,041), a diferença entre \hat{i}_m e \hat{i}_s foi 0,040 e a taxa de autofecundação (\hat{s}) foi 0,083. Assim, neste ciclo reprodutivo, 91,7% das plântulas foram geradas por cruzamentos, sendo 87,7% entre indivíduos não aparentados, 4,0% entre aparentados e 8,3% por autofecundação. Pode-se, desta forma, considerar a *C. langsdorffii* como de reprodução mista, predominantemente alógama. Estes valores estão próximos da média encontrada para as Angiospermas arbóreas tropicais (Tabela 2).

A taxa de cruzamento entre aparentados é pequena (4%), mas indica a possibilidade de existir estruturação na população. Com relação a \hat{i}_m , esta apresentou o valor de 0,917, indicando a existência de autofecundação (8%) na população estudada.

A t estimada por progênie variou de 0,00 a 1,00. Esta discrepância nas taxas de cruzamentos individuais deve estar associada ao assincronismo na floração masculina e feminina, dado que as árvores não estão isoladas, ou ainda devido ao comportamento dos polinizadores. Provavelmente as progênies de número P09, P11, P13 e P19, que apresentaram um baixo valor de t , floresceram no início ou no fim do pico da florada masculina da população, fase em que provavelmente havia pouco ou nenhum pólen disponível para os cruzamentos, o que possivelmente possibilitou a autofecundação.

TABELA 12: Taxa de cruzamento por progênie (t), taxas de cruzamento multilocos (\hat{t}_m), unilocos (\hat{t}_s) e taxa de autofecundação na população (\hat{S}) de *Copaifera langsdorffii* Desf. para a população da Mata Ciliar. (Os desvios padrões se encontram entre parênteses).

Progênie (Mata Ciliar)	t	\hat{t}_m	\hat{t}_s	$\hat{t}_m - \hat{t}_s$	\hat{S}
P 01	0,78 (0,12)				0,22
P 02	1,00 (0,02)				0,00
P 03	0,95 (0,06)				0,05
P 04	0,92 (0,06)				0,08
P 05	0,91 (0,07)				0,09
P 06	0,78 (0,11)				0,22
P 07	0,76 (0,17)				0,24
P 08	1,00 (0,00)				0,00
P 09	0,31 (0,11)				0,69
P 10	0,98 (0,06)				0,02
P 11	0,00 (0,00)				1,00
P 12	0,93 (0,06)				0,07
P 13	0,50 (0,19)				0,50
P 14	0,92 (0,00)				0,08
P 15	1,00 (0,14)				0,00
P 16	0,91 (0,14)				0,09
P 17	0,99 (0,04)				0,01
P 18	0,99 (0,04)				0,01
P 19	0,05 (0,08)				0,95
P 20	1,00 (0,00)				0,00
Média	—	0,917 (0,041)	0,877 (0,030)	0,040 (0,023)	0,083

4.6 Fluxo gênico (\hat{N}_m)

A estimativa de fluxo gênico para cada par de populações de adultos é mostrada na Tabela 13.

Para a estimativa do fluxo gênico, utilizou-se o coeficiente de coancestralidade de Cockerham ($\hat{\theta}_p$) como medida de diversidade genética entre populações, obtido a partir da análise de variância das frequências alélicas, conforme sugerem Cockerham e Weir (1993), em substituição a \hat{F}_{ST} . A relação da divergência genética entre populações e a quantidade de migrantes (\hat{N}_m) é dada pela fórmula de Crow e Aoki (1984) e as estimativas indiretas do tamanho da vizinhança (\hat{N}_b) por um modelo de alondras de estrutura populacional [fórmula de Barton, (não publicada, em Slatkin e Barton, 1989)].

A partir da Tabela 13, observa-se que o número médio de migrantes por geração (\hat{N}_m) foi de 0,41, indicando baixo fluxo gênico aparente, e o valor de \hat{N}_b foi em torno de 2 indivíduos. De acordo com Slatkin e Barton (1989), os valores de Nm e Nb determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Se Nm ou Nb são maiores que 1,0, então o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir uma diferenciação devido à deriva genética.

Dessa forma, estes valores indicam que o fluxo gênico não é suficiente para evitar uma diferenciação populacional devido à deriva genética, podendo ser considerado, no entanto, relativamente pequeno quando comparado aos valores obtidos de outras espécies arbóreas tropicais (Tabela 3). Indicam também que o número de genitores que trocam alelos ao acaso está em torno de 2 indivíduos, sendo que um número menor de indivíduos em uma mesma unidade de área implicaria em um aumento da divergência entre as vizinhanças,

em decorrência do aumento interno dos níveis de endogamia, alterando a estrutura genética da população a médio prazo (Reis, 1996). Além disso, os efeitos da deriva genética se acentuariam, levando, possivelmente, à perda dos alelos de menor frequência. Adicionalmente, os níveis de heterozigosidade iriam diminuir, reduzindo a diversidade genética da população. Essa redução na diversidade teria conseqüências diretas na dinâmica populacional, implicando na redução do dinamismo das populações naturais da espécie.

Verificando o fluxo gênico entre cada par de populações (Tabela 13), observa-se que entre as populações do Cerrado e Mata Semidecidual este valor é, no mínimo, o dobro do valor das populações entre o Cerrado e Mata Ciliar, que, por sua vez, é maior que o valor entre a Mata Semidecidual e Mata Ciliar; e quando se consideram as três populações, tem-se então um valor intermediário.

TABELA 13: Fluxo gênico (\hat{N}_m), estimativas indiretas do tamanho da vizinhança (\hat{N}_b) obtido a partir de estimativas de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) de três populações de adultos de *Copaifera langsdorffii* tomadas duas a duas e as três populações juntas.

Populações	n	np	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m	\hat{N}_b
Cerrado e Mata Semidecidual	40	2	0,073	0,79	4,96
Cerrado e Mata Ciliar	53	2	0,142	0,38	2,39
Mata Semidecidual e Mata Ciliar	53	2	0,162	0,32	2,01
Cerrado, Mata Semidecidual e Mata Ciliar	73	3	0,131	0,41	2,58

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

O valor de \hat{N}_m calculado a partir de divergência genética reflete o fluxo gênico que ocorreu durante um longo período; ele não indica se está havendo obrigatoriamente fluxo gênico em determinado evento reprodutivo, mas estima os níveis de fluxo gênico que devem ter ocorrido no passado para produzir os padrões observados de estrutura genética. Assim, o valor de \hat{N}_m , ao invés de fluxo gênico atual, pode indicar uma base genética mais estreita entre as populações do Cerrado e da Mata Semidecidual do que entre Cerrado e Mata Ciliar ou mesmo entre Mata Semidecidual e Mata Ciliar, sugerindo que elas estivessem mais ligadas anteriormente ou que fossem originárias de uma população ancestral comum. Isto é bastante coerente com a formação da população do Cerrado a partir de uma população anteriormente ligada à população da Mata Semidecidual, que no passado deveriam ter sido uma única população, que através dos processos de fragmentações das florestas, deu origem a estas populações distintas.

A população da Mata Ciliar deveria ter também uma ligação mais antiga com as outras populações; se for considerado que o \hat{N}_m é realmente o resultado de fluxo gênico recente, as populações da Mata Semidecidual e Cerrado estariam trocando genes entre si muito mais do que com a população da Mata Ciliar. A troca de genes acontece entre a população da Mata Ciliar e as outras, mas em menor amplitude; isto também pode ser facilmente explicado se for levada em consideração a distância entre as populações. A população do Cerrado encontra-se próxima à Mata Semidecidual (aproximadamente 1.400 m), enquanto a população da Mata Ciliar encontra-se a uma distância de aproximadamente 10.600 m das demais.

4.7 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)

O tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) é um parâmetro muito importante a ser conhecido nas atividades de preservação de germoplasmas, coleta de sementes e conservação *in situ*, uma vez que trata da representatividade genética das amostras. Segundo Vencovsky (1987), nas atividades de coleta de sementes de plantas alógamas, sua importância é tal que não é suficiente coletar centenas ou até milhares de sementes de apenas uma única planta, porque elas não valerão mais do que quatro sementes colhidas de quatro plantas. Por conseguinte, para esta atividade, o conhecimento do \hat{N}_e é fundamental para delinear as estratégias ótimas de coleta.

A partir da estimativa de \hat{N}_e (Tabela 14), para plantas adultas, pode-se afirmar que os 20 indivíduos (n) amostrados na população do Cerrado, 20 indivíduos da Mata Semidecidual e 33 indivíduos da Mata Ciliar representam, geneticamente, 16,1; 18,9 e 41,5 plantas, respectivamente, de uma população panmítica ideal.

Para a população do Cerrado, o tamanho efetivo foi menor que o número de indivíduos amostrados. Esta diferença é devido a uma menor variação genética, como verificado pela endogamia nas plantas adultas desta população. Para a população da Mata Semidecidual, o tamanho efetivo foi próximo ao número de indivíduos, e para a população da Mata Ciliar, o tamanho efetivo foi superior ao número de indivíduos. Estes resultados estão de acordo com os índices de fixação detectados, ou seja, não há endogamia nas plantas adultas desta população. Esta superioridade decorreu da alta heterozigosidade detectada nesta geração. Como os heterozigotos carregam sempre dois alelos diferentes, eles podem representar um número maior de indivíduos na população.

TABELA 14: Tamanho efetivo (\hat{N}_e) e número de indivíduos (n) de três populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de dados de indivíduos adultos e de progênie de uma das populações.

População (Adultos)	\hat{N}_e	$\hat{N}_{e/matriz}$	n
Cerrado	16,1	—	20
Mata Semidecidual	18,9	—	20
Mata Ciliar	41,5	—	33
<i>Média</i>	<i>25,5</i>	—	<i>24,3</i>
População (Progênie)			
Mata Ciliar	55,9	2,80	396

O valor do tamanho efetivo estimado com as progênies foi bastante baixo em relação ao número de indivíduos (Tabela 14), o que é naturalmente esperado devido ao parentesco existente entre as plântulas das progênies. Esta estimativa mostra que 396 plântulas analisadas da população da Mata Ciliar correspondem a 56 indivíduos de uma população panmítica ideal.

O $\hat{N}_{e/matriz}$ foi médio, 2,80 (55,93/20). Este valor decorre do tamanho finito da prole da matriz, 20 plântulas. O valor máximo assumido por $\hat{N}_{e/matriz}$ para amostras de tamanho infinito, ou na ordem de centenas, de espécies alógamas, é 4F, onde F é o número de matrizes; assim, $\hat{N}_{e/matriz}$ poderia atingir o valor 4. Por sua vez, o \hat{N}_e poderia atingir o valor máximo de 80 (4 x 20). O \hat{N}_e obtido foi de 55,93, que corresponde a 69,91% do máximo, podendo ser considerado como bom; porém revelando a existência de homozigose no conjunto das progênies, em concordância aos índices de fixação de Wright.

Vencovsky (1987) sugere, para aumentar o \hat{N}_e , tanto para a coleta de sementes como para a preservação de germoplasmas, que se processe o controle gamético feminino através da colheita de um número igual de sementes de cada planta. Em prática, resulta em um tamanho efetivo maior, uma vez que todas as plantas contribuirão com número igual de gametas femininos, não havendo riscos de uma contribuir com mais ou menos sementes, como ocorre quando são misturadas em proporções desiguais por matriz. Tal prática reduz o efeito da deriva genética ou, em termos quantitativos, reduz a variância do número de gametas fornecidos pelas plantas genitoras, aumentando o \hat{N}_e ou, em outros termos, a representatividade genética do material. Nessa técnica de coleta de campo, o tamanho efetivo máximo atingível é $4F$, sendo F o número de plantas genitoras. Ainda segundo o autor, o que se deve tomar aleatoriamente é o conjunto de plantas genitoras e não suas sementes. Então, na atividade de coleta de sementes, o ideal é que se procure sempre reunir descendentes, como sementes, de um maior número possível de plantas genitoras, e de preferência um número igual ou aproximadamente igual de sementes de cada uma. Para *C. langsdorffii*, o ideal para a coleta de sementes é que estas sejam coletadas em quantidades iguais por matriz, de pelo menos 25 matrizes, aleatoriamente, nas populações. Esta estratégia garantiria a integridade genética das sementes. A recuperação de áreas degradadas com sementes coletadas a partir destes princípios dará origem a populações com alto potencial evolutivo, dada a possibilidade de infinitas novas recombinações genotípicas que, por sua vez, aumentarão a adaptabilidade da espécie ao ambiente, a possíveis mudanças ambientais futuras e à colonização de novas áreas.

Para fins de conservação *in situ*, a população que apresentou maior potencial foi a da Mata Ciliar, considerando a heteroziguidade observada, a baixa endogamia nos adultos e os indícios de seleção para heterozigotos entre a

fase de plântula e a fase adulta. Para se obter a área mínima viável para a conservação *in situ*, tomando-se como 50 o número mínimo de indivíduos para esta prática (Frankel e Suolé, 1981) e sendo a relação \hat{N}_e/n da população da Mata Ciliar igual a 1,257 (41,5/33), e o número médio estimado de plantas reprodutivas por hectare igual a 48, supõe-se que estas poderão ser conservadas em áreas de 0,83 ha [$50/(48 \times 1,257)$], sem que ocorra o perigo da perda de alelos raros a curto prazo. Entretanto, Frankel e Soulé (1981) sugerem 500 ou mais indivíduos para a conservação de uma população ideal (com cruzamentos aleatórios, igual proporções de indivíduos de ambos os sexos, sem flutuações na população, sem sobreposição de gerações e distribuição aleatória das progênes). Neste caso, a área requerida para a conservação de *C. langsdorffii* seria de 8,3 ha, podendo ser considerada uma mata pequena. Este resultado decorre da alta densidade de indivíduos na população e mostra que, para o caso da conservação de ecossistemas florestais, o ideal é que a estimativa da área viável seja realizada a partir das espécies raras [menos de 4 indivíduos por hectare] (Hamrick e Murawski, 1991), visto que estas requerem muito espaço para a sua manutenção. Então, utilizando espécies raras na determinação da área mínima viável para a conservação, um grande número de espécies comuns, como a *C. langsdorffii*, serão preservadas indiretamente, visto que estas requerem menos área para a sua manutenção.

5 CONCLUSÕES

O estudo das populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. através de dados de isoenzimas possibilitou chegar as seguintes conclusões:

As freqüências alélicas variam tanto dentro quanto entre as populações, verificando-se diferenças significativas entre as três populações adultas e que existe equilíbrio entre as gerações da população da Mata Ciliar.

A estrutura genética foi caracterizada por apresentar uma maior variação genética dentro das populações (87%) e uma menor variação entre (13%).

As populações do Cerrado e Mata Semidecidual são mais semelhantes entre si e são divergentes da população da Mata Ciliar.

Os índices de diversidade genética detectados foram altos quando comparados com outras espécies arbóreas tropicais, sugerindo que as populações estudadas são favoráveis à conservação genética *in situ*.

A maioria dos locos para as populações adultas encontram-se nas proporções do EHW; portanto, isto sugere que estas populações foram geradas por cruzamentos aleatórios.

De acordo com as estimativas dos parâmetros do sistema de reprodução, verificou-se que a *C. langsdorffii* é uma espécie de reprodução mista predominantemente alógama.

Através das estimativas do fluxo gênico, verificou-se que existe uma maior similaridade entre as populações do Cerrado e Mata Semidecidual do que entre as populações do Cerrado e Mata Ciliar ou entre Mata Semidecidual e Mata Ciliar, evidenciando que elas estivessem mais ligadas anteriormente ou que foram originárias de uma população ancestral comum.

A estimativa do tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) sugere que a área mínima viável para a conservação *in situ* de uma população ideal de *C. langsdorffii* é de, no mínimo, 8,3 hectares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins; fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1998. 574 p.
- ALFENAS, A. C.; PETERS, I, BRUNE, W.; PASSADOR, C. G. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1991. 242 p.
- ALLARD, RW.; JAIN, S.K.; WORKMAN, P.L. The genetics of inbreeding populations. *Advance Genetic*, v.14, p.55-131, 1968.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARAY, A. A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pionner tree species. *Evolution*, v. 48, n. 2, p. 437-453, 1994.
- ANDRADE, H. Caracterização genética, morfologia e classificação de dois solos do município de Lavras – MG em correlação com a geomorfologia da área. Lavras, MG: ESAL, 1979. 79p. (Tese-Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas).
- ASINS, M. J.; CARBONELL, E. A. Concepts involved in measuring genetic variability and its importance in conservation of plant genetic resources. *Evolution Trends Plants*, v.1, p. 51-61, 1987.
- BARBOSA, J.M.; AGUIAR, I.B.; SANTOS, S.R.G. dos. Maturação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, São Paulo, 1992. Anais... São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p.665-774. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v.4, parte 3, 1992.). (Edição Especial).
- BARRETT, S. C. H.; HUSBAND, B. C. The genetics of plant migration and colonization. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (eds.). *Plant population genetics, breeding and germplasm resources*. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 254-277.
- BARRETT, S. C. H.; KOHM, R. Genetic and evolutionary consequences of small population size. In: FALK, D.A. ; KOLSINGER, K. E. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York: Oxford University, 1991. p. 3-30.

- BARROS, M.A.G. Flora medicinal do Distrito Federal. *Brasil Florestal*, Brasília, v.12, n.50, p.35-45, 1982.
- BAWA, K.S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. *Evolution*, v.28, p.85-92, 1974.
- BAWA, K.S.; O'MALLEY, D. M. Estudios genéticos y de sistemas de cruzamiento en algunas especies arbóreas de bosques tropicales. *Revista de Biología Tropical*, v. 35, p. 177-188, 1987.(Supl.).
- BIERREGAARD Jr.; LOVEJOY, R. O. T.; KAPOV, V. DOS SANTOS, A.; HUTCHINGS, R. The biological dynamics of tropical rain forest fragments. *BioScience*, v.42, p. 859-866, 1992.
- BOECKLEN, W. J.; SIMBERLOFF, D. Area-based extinction models in conservation. In: ELLIOT, D. K. (ed.). *Dynamics of extinction*. [S.l]: J. Wiley e Sons, 1986. p.165-180.
- BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G. Germinação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. provenientes de frutos com diferentes graus de maturação. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.1, n.3, p.45-47, 1979.
- BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; CÂNDIDO, J.F.; GOMES, J.M. Comparação de métodos de quebra de dormência de sementes de copaíba. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.4, n.1, p.9-12, 1982.
- BOSHIER, D. H.; CHASE, M. R.; BAWA, K. S. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 2. Mating system. *American Journal of Botany*, v. 82, n. 4, p. 476-483, 1995.
- BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do Cerrado Mineiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.15, n.168, p.15-20, 1991.
- BROWN, A.H.D. Enzyme polymorphism in plant populations. *Theoretical Population Biology*, v.15, p. 1-42, 1979.
- BROWN, A.H.D. Genetic characterization of plant mating systems. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T. - KAHLER, A.L.; WEIR, B.S. (eds.). *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Massachusetts: Sinauer, 1989. p. 145-162.

- BROWN, A.H.D.; MATHESON, A.C.; ELDRIDGE, K.G. Estimation of the mating system for *Eucalyptus obliqua* L' Herit. using allozyme polymorphism. *Australian Journal Botanic*, v.23, p. 931-949, 1975.
- BROWN, A.H.D.; WEIR, B. S. Measuring genetic variability in plant populations. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. (eds.). *Isozymes in plant genetics and breeding: part. A*. Amsterdam: Elsevier Science, 1983. p. 219-239.
- BUCKLEY, D. P., O'MALLEY, D. M., APSIT, V., PRANCE, G. T., BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.: Lecythidaceae). 1. Genetic variation in natural populations. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 76, p. 923-928, 1988.
- CAMARGO, A.F.; BUENO, J.B.T.; ROSADO, S.C.S. Tratamento pré-germinativos de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*). In: CONGRESSO FLORESTAL DO PARANÁ, 2, Curitiba, 1988. *Anais...* Curitiba: Instituto Florestal do Paraná, 1988. p.669-678.
- CAPELANES, T. M. C. Tecnologia de sementes florestais na Companhia Energética de São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, Atibaia, 1989. *Anais...* São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p.49-57.
- CARVALHO, D.A. de. Flora fanerogâmica de Campos Rupestres da Serra da Bocaina, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. *Ciência e Prática*, Lavras, v.16, n.1, p.97-122, 1992.
- CARVALHO, P.E.R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira*. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p.
- CHASE, M. R.; BOSHIER, D. H.; BAWA, K. S. population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 1. Genetic variation in natural populations. *American Journal of Botany*, v. 82, n. 4, p. 468-475, 1995.
- CIAMPLI, A. Y. Desenvolvimento e utilização de marcadores microsátélites, AFLP e sequenciamento de cpDNA, no estudo da estrutura genética e parentesco em populações de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*) em matas de galeria no cerrado. Botucatu: Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"- Instituto de Biociências, 1999. 109 p. (Tese-D.S.).



- CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; ALLARD, R.W. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. **Genetics**, v.89, p. 765-792, 1978.
- CLEGG, M.T. Measuring plant mating Systems. **Bioscience**, v.30, n.12, p. 814-818, 1980.
- COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, v.23, p.72-84, 1969.
- COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Correlations, descent measures: drift with migration and mutation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 84, n. 23, p. 8512-8514, 1987.
- *COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of gene flow from F-statistics. **Evolution**, v.47, n.3, p.855-863, 1993.
- CRANE, E. O Livro do mel. São Paulo: Nobel, 1985. 226p.
- CRAWFORD, T.J. Phylogenetic and systematic interferences from electrophoretic studies. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. (eds.). **Isozymes in plant genetics and breeding: part A**. Amsterdam: Elsevier Science, 1983. p. 257-287.
- CRAWFORD, T.J. Enzyme electroforesis: basic methods and interpretation of banding patterns. **Plant molecular systematics**. New York: J. Wiley e Sons, 1990. p. 65-79.
- *CRESTANA, C. de S.M. Biologia da polinização de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinioideae), o "óleo de copaiba". **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.1, n.1, p.201-204, 1989.
- CROW, J.F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, p.6073-6077, 1984.
- CURI, N.; LIMA, J.M.; ANDRADE, H.; GUALBERTO, V. Geomorfologia, física, química e mineralogia dos principais solos da região de Lavras (MG). **Ciência e Prática**, Lavras, v.14, p.297-307, set./dez. 1990.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Ministério da Agricultura. Normas climatológicas (1961 – 1990), Brasília, 1992. 132p.

DIAS, L.A. dos S.; KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em espécies arbóreas e consequências para o melhoramento florestal. *Agrotropica*, v.3, n.3, p. 119-127, 1991.

DUARTE, A.P. Contribuição ao conhecimento da germinação das sementes nas essências mais usuais. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v.31, n.48, p.59-68, 1979.

EGUIARTE, L. E.; PEREZ-NASSER, L.; PINERO, D. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, v. 69, p. 217-228, 1992.

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

✓ EIRA, M.T.S.; SALOMÃO, A.N.; CUNHA, R. da.; MELLO, C.M.C. de.; TANAKA, D.M. Conservação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. / Leguminosae. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo.1992.Anais... São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p.523-526. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v.4, parte 2, 1992.). (Edição Especial).

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

FERNANDES, A. G. Biodiversidade do Semi-Árido Nordeste. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. Anais... São Paulo: Instituto Florestal, 1992, p.119-124. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v.4, parte 1, 1992.). (Edição Especial).

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

FORREST, G. I. Biochemical markers in tree improvement programmes. *Forestry Abstracts*, Roslin, v.55, n.2, p.124-153, 1994.

- FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M. E. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University, 1981. 327p.
- FRIPP, Y.J.; GRIFFIN, A.R.; MORAN, G.F. Variation in allele frequencies in the outcross pollen pool of *Eticalypitis regnans* F. Muell. throughout a flowering season. **Heredity**, v. 59, p.161-171, 1987.
- FRIXEL, P.A. Mode of reproduction in higher plants. **Botany Review**, v.23, p.135-233, 1957.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Mapa de vegetação do Brasil, Rio de Janeiro, 1993. (Mapa).
- FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 2.ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 1992. 646p.
- FYFE, J.L.; BAILEY, N.T.J. Plant breeding studies in leguminous forage crops. 1. Natural cross-breeding in winter beans. **Journal Agricultural Science**, v.41, p.371-378, 1951.
- GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae)**. Campinas: UNIVERSIDADE DE CAMPINAS, 1996. 69p. (Dissertação-Mestrado).
- GANDARA, F.B. **Estrutura genética em duas populações naturais de cedro / *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) em mata primária em floresta secundária**. In: KAGEYAMA, P. Y. (coord.). **Estrutura genética de populações de espécies arbóreas tropicais em florestas primárias e em diferentes situações antrópicas**. Piracicaba: Departamento de Ciências Florestais, ESALQ/USP, 1997. 101p. (Relatório final FAPESP nº 1994/3046-9/ 1997).
- GAVILANES, M.L.; BRANDÃO, M. **Frutos, folhas e raízes de plantas do Cerrado, suas propriedades medicinais, tendo como veículo a cachaça**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.173, p.40-44, 1992.
- GE, S.; HONG, D.; WANG, H.; LIU, Z.; ZHANG, C. Population genetic structure and conservation of an endangered conifer, *Cathaya argyrophylla* (Pinaceae). **International Journal Plant Science**, v. 159, n.2, p. 351-357, 1998.

- GIBSON, J. P.; WHEELWRIGHT, N. T. Genetic structure in a population of a tropical tree *Ocotea tenera* (Lauraceae): influence of avian seed dispersal. *Oecologia*, v. 103, p. 49-54, 1995.
- GOMES, F. P. *Curso de estatística experimental*. 13.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 468p.
- GOTTLIEB, L. D. Gel electrophoresis: new approach to the study of evolution. *Bioscience*, v. 21, n. 18, p. 939-944, 1971.
- HALL, P.; ORRELL, L. C.; BAWA, K. S. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *American Journal Botany*, v. 81, n. 9, p. 1104-1111, 1994.
- HAMRICK, J.L. Genetic variation and longevity. In: SOLBRIG, O. T. *et al.* (eds.). *Topics in plant population biology*. New York: Columbia University, 1979. p. 84-113.
- HAMRICK, J.L. The Distribution of Genetic Variation Within and Among Natural Plant Population. In: SCHONE-WALD-COX, C. M.; S.H. CHAMBERS, S.H.; MacBYDE, B.; THOMAS, L. *Genetics and Conservation*. Menlo Park-California: Benjamin Cummings, 1983. p. 335-348.
- HAMRICK, J.L. Isozymes and Analysis of Genetic Structure in Plant Populations. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P. (eds.). *Isozymes and the Analysis of Genetic Structure in Plant populations*. Chapman and Hall, 1989. p.87-105.
- HAMRICK J.L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (eds.). *Plant population genetics, breeding and germplasm resources*. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 43-63.
- HAMRICK J.L.; LOVELESS, M. D. The influence of seed dispersal mechanism on the genetic structure of plant populations. In: ESTRADA, A., FLEMING, T. H. (eds.). *Frugivores and dispersal*. Dordrecht: Dr. W. Junk, 1986a. p. 211-223.
- HAMRICK J.L.; LOVELESS, M. D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. *Biotropica*, v. 18, n. 3, p. 201-207, 1986b.

- HAMRICK J.L.; LOVELESS, M. D. The genetic structure of tropical tree populations: associations with reproductive biology. In: BOCK, J. H., LINHART, Y. B. (eds.). **The evolutionary ecology of plants**. Boulder: Westview, 1989. p. 129-146.
- HAMRICK J.L.; MURAWSKI, D.A. The breeding structure of tropical tree populations. **Plant Species Biology**, v.5, p 157-165, 1990.
- HAMRICK J.L.; MURAWSKI, D.A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, v. 7, p. 395-399, 1991.
- 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.; SCHNABEL, A. Understanding the genetic structure of plant populations: some old problems and a new approach. In: GREGORIUS, H.R. (ed.). **Population genetics in forestry**. Berlin, Springer Verlag, 1985. p. 50-76.
- HERRIT, M. M. Ecology and genetic variation of four hardwoods of Brazil's atlantic forest region. Raleigh: Departament of Forest, North Carolina State University, 1991. 204p. (Tese-PhD). *Apud* REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* Martius)**. Piracicaba: Departamento de Genética, ESALQ/USP, 1996. 203p. (Tese-Doutorado em Agronomia).
- HEYWOOD, V. G.; MACE, G. M.; MAY, R. M.; STUART, S. N. Uncertain extinction rates. **Nature**, v.368, p. 105, 1994.
- HILL, R. J.; PRANCE, G. T.; MORI, S. A.; STEWARD, W. C.; SHIMABUKURU, D.; BERNARD, J. Estudo eletroforético da dinâmica de variação genética em três taxa ribeirinhos ao longo do rio Solimões, America do Sul. **Acta Amazônica**, v. 8, n. 2, p. 183-199, 1978.
- HUGHES, J. B.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R. Population diversity: its extent and extinction. **Science**, v.278, p.689-692, 1997.
- HUNZIKER, J. H.; SCHAAL, B. A. Isozyme variation in diploid tropical and octoploid subtropical-temperate species of *Bulnesia*. **The Journal of Heredity**, v. 74, p. 358-360, 1983.

- JESUS, R.M.; GARCIA, A.; TSUTSUMI, I. Comportamento de doze espécies florestais da mata atlântica em povoamentos puros. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. Anais... São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p.491-496. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v.4, parte 2, 1992.) (Edição Especial).
- KAGEYAMA, P.Y.; BIELLA, L.C.; PALERMO Jr., A. Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. Anais... Campos do Jordão:SBS/SBEF, 1990. p.109-113.
- KAGEYAMA, P.Y. Conservação *In Situ* de recursos genéticos de plantas. IPEF, Piracicaba, v.35, p.7-37, 1987.
- KARRON, J. D. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. *Evolutionary Ecology*, v. 1, p.47-58, 1987.
- KARRON, J. D.; LINHART, Y. B. CHAULK, C. A.; ROBERTSON, C. A. Genetic structure of populations of geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, v. 75, p. 1114-1119, 1988.
- KEPHART, S. R. Starch gel electrophoresis of plant isozyme: a comparative analysis of techniques. *American Journal of Botany*, v. 77, n. 5, p. 693-712, 1990.
- KIMURA, M.; WEISS, G. The stepping-stone of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, v. 49, p. 561-576, 1964.
- KITAMURA, K.; RAHMAN, M. Y. B. A. Genetic diversity among natural populations of *Agathis borneensis*, a tropical rain forest conifer from Brunei Darussalam, Boreo, Southeast Asia. *Canadian Journal Botany*, v.70, p.1945-1949, 1992.
- KUHLMANN, M.; KUHN, E. A flora do Distrito de Ibiti. São Paulo: Secretaria da Agricultura-Instituto Botânico, 1947. 221p.

- LEPSCH-CUNHA, N. Estrutura genética e fenologia de espécies raras de *Couratari* spp. (Lecythidaceae) na Amazônia Central. Piracicaba: ESALQ/USP - Departamento de Ciências Florestais, 1996. 147p. (Dissertação-Mestrado em Ciências).
- LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d15). Free program distributed by the authors over the internet from the GDA Home Page at <http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>.
- LEWONTIN, R. C. The genetic basis of evolutionary change. New York: Columbia University, 1974. 346p.
- LIENGSIRI, C.; YET, F.C.; BOYLE, T.J.B. Isozyme Analysis of a Tropical Forest Tree, *Pterocarpus Macrocarpus* Kurz. Thailand. Forest Ecology and Management, v.74, p. 13-22, 1995.
- LOPES, J.A.; Little junior, E.L.; RITZ, G.F.; ROMBOLD, J.S.; HANA, W.J. Arboles comunes del Paraguay: nande yvyra mata kuera. Washington: Cuerpo de Paz, 1987. 425p.
- LOPES, J.A.; REIS, S. F.; FERREIRA, M. A.; MORETZSOHN, M. C. Genetics of the genus *Acrocomia* (Palmae). III. Microgeographical genetic variability in isozyme frequencies. Journal of Genetics and Breeding, v. 46, p. 9-14, 1992.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics, v. 15, p. 65-95, 1984.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Distribucion de la variacion en espécies de arboles tropicales. Revista Biología Tropicales, v. 35, p. 165-175, 1987. (supl. 1).
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L.; FOSTER, R. B. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. Heredity, v.81, p. 134-143, 1998.

- LUNDKWIST, K.; RUDIN, D. Genetic variation in eleven populations of *Picea abies* as determined by isozyme analysis. *Hereditas*, v.85, p.67-74, 1977.
- MAGSALAY, P. T.; DUTRSON, G.; TIMMIS, R. Extion and conservation on Cebu. *Nature*, v.373, p.294, 1995.
- MALÉCOT, G. Heterozygosity and relationship in a regularly subdivided population. *Theoretical Population Biology*, v. 8, p. 212-241, 1975.
- MALTEZ, H. M. Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. - Apocynaceae (peroba rosa) em uma floresta estacional semidecidual no Estado de São Paulo. Campinas: UNICAMP-Instituto de Biologia, 1997. 132p. (Dissertação-Mestrado em Ciências).
- 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.
- METTER, I.E.; GREGG, T.G. Genética de populações e evolução. São Paulo: Poligono, 1973. 262p.
- MORAN, G. F.; HOPPER, S. D. Genetic diversity and the insular population structure of the rare granite rock species, *Eucalyptus caesia* Benth. *Australian Journal Botany*, v. 31, p. 161-172, 1983.
- MORAN, G. F.; MUONA, O.; BELL, J. C. Breeding systems and genetic diversity in *Acacia auriculiformis* and *A. crassicarpa*. *Biotropica*, v. 21, n.3, p. 250-256, 1989a.
- MORAN, G. F.; MUONA, O.; BELL, J. C. *Acacia mangium*: a tropical forest tree of the coastal lowlands with low genetic diversity. *Evolution*, v. 43, n.1, p. 231-235, 1989b.
- MORAES, P. L. R. Estrutura genética de pupolações de *Cryptocarya moschata* Nees e Martius ex Nees (Lauraceae). Rio Claro: UNESP-IB, 1997. 190p. (Tese- Doutorado em Ciências Biológicas).
- MORAES, M. L. T. Variabilidade genética por isoenzimas e caracteres quantitativos em duas populações naturais de aroeira *Myracrodruon urundeuva* F. F. e M. F. Allemão (Anacardiaceae) Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler. Piracicaba: USP-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1992. 139p. (Tese-D.S.).

- MOTTA JUNIOR, J.C.; LOMBARDI, J.A. Aves como agentes dispersores de copaíba (*Copaifera langsdorffii*, Caesalpinaceae) em São Carlos, Estado de São Paulo. *Ararajuba*, v.1, p.105-106, 1990.
- MURAWSKI, D.A.; BAWA, K. S. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *American Journal of Botany*, v. 81, n. 2, p. 155-160, 1994.
- MURAWSKI, D.A.; GUNATILLEKE, I.A.U.N.; BAWA, K. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka. *Conserv. Biol*, v.8, p. 997-1002, 1994.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity*, v. 67, p. 167-174, 1991.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J. L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *Jornal of Heredity*, v. 83, p.401-404, 1992a.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J. L. The mating system of *Cavanillesta platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. *Biotropica*, v. 24, n. 1, p. 102-104, 1992b.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J. L.; HUBBELL, S. P.; FOSTER, R. B. Mating systems of two bombacaceous trees of a neotropical moist forest. *Oecologia*, v. 82, p. 501-506, 1990.
- NASCIMENTO, J. C. Ecological Studies of Sesquiterpenes and Phenolic Compounds in Leaves of *Copaifera* L. (Caesalpinaceae) in a Central Amazonian Rain Forest. Santa Cruz: Univerty of California, 1980. 186p. (Thesis-of Ph. D).
- NEGRÃO, M. O. Estrutura genética de populações naturais de *Syagrus romanzoffiana*. (Arecaceae) do continente (Serra do Mar, S.P.) e da Ilha dos Alcatrazes. Piracicaba ESALQ/USP-Departamento de Agronomia, 1999. 78p. (Dissertação-Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- 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. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v.89, p.583-590, 1978.
- NEI, M. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University. 1987. 512p.
- NEI, M.; MURAYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, v. 29, n. 1, p. 1-10, 1975.
- OLIVEIRA FILHO, A. T.; SCOLFORO, J.R.S.; MELLO, J.M.DE. Composição florística e estrutura comunitária de um remanescente de floresta semidecídua montana em Lavras, MG. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.17, n.2, p.167-182, dez. 1994.
- O'MALLEY, D. M.; BAWA, K. S. Mating system of a tropical rain forest tree species. *American Journal of Botany*, v. 74, n. 8, p. 1143-1149, 1987.
- O'MALLEY, D. M.; BUCKLEY, D. P.; PRANCE, G. T.; BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.: Lecythidaceae). 2. Mating system. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 76, p. 929-932, 1988.
- PAIVA, J. R. Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. De Juss.) Muell. Arg.] Piracicaba: ESALQ/USP-Departamento de Genética, 1992. 142p. (Tese-Doutorado em Agronomia).
- PAIVA, J. R.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R.; CONTEL, P. B. Genetics of rubber tree (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Mull. Arg.) 1. Genetic variation in natural populations. *Silvae Genetica*, v. 43, n.5/6, p. 307-312, 1994.
- PÁSZTOR, Y.P.C. Métodos usados na colheita de sementes. *Silvicultura em São Paulo*, v.1, n.2, p.305-323, 1962/63.
- PAULA, J.E. de. Estudo das estruturas internas das madeiras de dezesseis espécies da flora brasileira, visando seu aproveitamento para produção de álcool, carvão, coque e papel. *Brasil Florestal*, Brasília, v.11, n.47, p.23-50, 1981.
- PAWLETT, S. Brazilian trees provide basis for diesel fuel. *Canadian Forest Industries*, v.100, n.3, p.74-75, 1980.

- PEREIRA, J.A MAINIERI, C. Madeiras do Brasil. Anuário Brasileiro de Economia Florestal, Rio de Janeiro, v.9, n.9, p.339-498, 1957.
- PEREZ, S.C.J.G. de A.; PRADO, C.H.B. de A. Efeitos de diferentes tratamentos pré-germinativos e de concentração de alumínio no processo germinativo de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.15, n.1, p.115-118, 1993.
- PÉREZ-NASSER, N.; EGUIARTE, L. E.; PIÑERO, D. Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxluensis* (Rubiaceae). American Journal of Botany, v. 80, n. 1, p. 45-52, 1993.
- PETERS, G. B.; LONIE, J. S.; MORAN, G. F. The breeding system, genetic diversity and pollen sterility in *Eucalyptus pulverulenta*, a rare species with small disjunct populations. Australian Journal Botany, v. 38, p. 559-570, 1990.
- POWELL, J. R. Protein variation in natural populations of animals. Evolutionary Biology, v. 8, p. 79-119, 1975.
- REIS, M. S. Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmiteiro (*Euterpe edulis* Martius). Piracicaba: ESALQ/USP-Departamento de Genética, 1996. 203p. (Tese-Doutorado em Agronomia).
- RITLAND, K. The effective proportion of self-fertilization with consanguineous matings in inbred populations. Genetics, v.10, p. 139-152, 1984.
- RITLAND, K. The genetic mating structure of sub-divided populations. I. Openmating model. Theor. Popul. Biol, v.27, p.51-74; 1985.
- RITLAND, K. Joint maximum likelihood estimation of genetic and mating structure using open-pollinated progenies. Biometrics, v.42, p.25-43, 1986.
- RITLAND, K. A series of FORTRAN Computer Programs for Estimating Plant Mating Systems. Journal of Heredity, v.81, p.235-237, 1990.
- RITLAND, K. Multilocus mating system program. MLTR. Version 1.1. Written and copyrighted by Kermit Ritland. Department of Botany, University of Toronto, Canadá. 1997. (não publicado).

- RITLAND, K.; EL-KASSABY, Y.A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. *Theor. Appl. Genetic*, v.71, p.371-384, 1985.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequency using independent loci. *Hereditary*, v.47, p. 35-52, 1981.
- RIZZINI, C.T. *Tratado de fitogeografia do Brasil*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1976. v.1, 327p.
- ROBISON, I. P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ROBISON, I. P. *Eletroforese de isoenzimas e proteínas em plantas e microorganismos*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. p. 329-380.
- ROCHA, O. J.; LOBO, J. A. Genetic variation and differentiation among five populations of the guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.) In: Costa Rica. *International Journal Plant Science*, v.157, n.2, p. 234-239, 1996.
- SALVADOR, J. L. G. Comportamento de espécies florestais nativas em áreas de depleção de reservatórios. *IPEF, Piracicaba*, v.33, p.73-78, 1986.
- SANTOS, E. M. G. *Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em Bauhinia forficata Link. (Caesalpinaceae)*. Piracicaba: Departamento de Genética/ ESALQ/USP, 1994. 114p.(Dissertação-Mestrado em Agronomia).
- SCANDALIOS, J. G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. *Biochemical Genetics*, v. 3, p. 37-79, 1969.
- SEBBENN, A. M. *Estrutura genética de subpopulações de Genipa americana L. (Rubiaceae) a partir de isoenzimas*. Piracicaba: Departamento de Ciências Florestais/ESALQ/USP, 1997. 107p. (Dissertação-Mestrado em Ciências Florestais).
- SHAW, D.V.; ALLARD, R.W. Analysis of mating system parameters and populations structure in Douglas-fir using single locus and multilocus methods. In: SYMPOSIUM ON ISOZYMES OF NORTH AMERICAN FOREST TREES AND FOREST INSECTS, Berkeley, 1979. *Proceedings...* Berkeley: U.S.D.A., Forest Service, Pacific Southwest Forest and Range Experimental Station, General Technical, 1981. p. 18-22.

- SHAW, D.V.; ALLARD, R.W. Estimation of Outcrossing Rates in Douglas-Fir Using Isozyme Markers. *Theor. Appl. Genetic* v.62, p.113-120, 1982.
- SHAW, D.V.; BROWN, A.H.D. Optimum number of marker loci for estimating outcrossing in plant populations. *Theor Appl. Genetic.*, v.61, p.321-325, 1982.
- SHAW, D.V.; KAHLER, A.L.; ALLARD, R.W. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v.78, p.1298-1302, 1981.
- SHEELY, D. L.; MEAGHER, T. Genetic diversity in Micronesian island populations of the tropical tree *Camposperma brevipetiolata* (Anacardiaceae) *American Journal of Botany*, v.83, n.12, p.1571-1579, 1996.
- SIEGEL, S. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. New York: McGraw-Hill, 1956. 312p.
- SILVERTOWN, J.W.; DOUST, J.L. *Introduction to plant population biology*. Oxford: Blackwell Scientific, 1993. 210p.
- SIMBERLOFF, D. Are we on the verge of a mass extinction in tropical rain forests In: ELLIOT, D. K.(ed.). *Dynamics of extinction*. [S.l.]: Wiley e Sons, 1986. p. 165-180.
- SIQUEIRA, A.C.M.F.; NOGUEIRA, J.C.B. Essências brasileiras e sua conservação genética no Instituto Florestal de São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. *Anais...* São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p. 1187. (Publicado na Revista do Instituto Florestal, v.4, 1992.) (Edição Especial)
- SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating averag levels of gene flow. *Evolution*, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, 1989.
- SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 16, p. 393-430, 1985.
- *SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. *Isozymes in plant biology*. Portland: Oregon: Dioscorides, 1989. 268p.

- SOULÉ, M. E. What do we really know about extinctions In: SCHOENWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; B. MACBRYDE, B.; L. (eds.). **Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations.** [S.l.]: Thomas. Benjamin-Cummings, 1983. p. 111-124.
- SOULÉ, M. E.; KOLM, K. A. **Research priorities for conservation biology.** Washington: Island, 1989. (Critical Issues Series)
- SOUZA, L. M. F. I. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP).** Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. 76p. (Dissertação-Mestrado em Ciências Florestais).
- STACY, E. A.; HAMRICK, J. L.; NASON, J. D.; HUBBELL, S. P.; FOSTER, R. B.; CONDIT, R. **Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species.** *The American Naturalist*, v. 148, n. 2, p. 275-298, 1996.
- STEBBINS, G. L. **Introduction.** In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (eds.). **Isozymes in plant biology.** London: Chapman and Hall, 1990. p. 1-4.
- SYSTEMA, K. J.; SCHAAL, B. A. **Genetic variation, differentiation, and evolution in a species complex of tropical shrubs based on isozymic data.** *Evolution*, v. 39, n. 3, p. 582-593, 1985.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER R.B. **BIOSYS-1. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics.** Release 1.7. Illinois: Natural History Survey, 1989. 43p.
- TORRES, A. M.; DIEDENHOFEN, U.; BERGH, B. O.; KNIGHT, R. J. **Enzyme polymorphisms as genetic markers in the avocado.** *American Journal of Botany*, v. 65, n. 2, p. 134-139, 1978.
- TORRES, R.B.; MATTHES, L.A.F.; RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO, H. de F. **Espécies florestais nativas para plantio em áreas de brejo.** *O Agrônomo*, Campinas, v.44, n.1/2/3, p.13-16, 1992.
- VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas.** *IPEF*, v. 35, p. 79-84, 1987.

- VENCOVSKY, R. Análise de variância de freqüências alélicas. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE GENÉTICA, 10, Rio de Janeiro, 1992. Proceedings... Rio de Janeiro, 1992. (Publicado na Revista Brasileira de Genética). v.15, p.53-60, 1992. (supl. 1).
- VENCOVSKY, R. Variance of an estimative of outcrossing rate. *Revista Brasileira de Genética*, v.17, n.3, p.349-351, 1994.
- WASJUTIN, K. Dendrologia e chave prática para a identificação das principais árvores latifoliadas indígenas na Fazenda Monte Alegre, PR. Telêmaco Borba: Klabin do Paraná, 1958. 105p. (mimeografado).
- WEEDEN, N. F. Evolution of plant isozyme. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. (eds.). *Isozymes in plant genetics and breeding; part A*. Amsterdam: Elsevier Science, 1983. p. 175-205.
- WEEDEN, N. F.; WENDEL, J. F. Genetics of plant isozymes. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (eds.). *Isozymes in plant biology*. London: Chapman and Hall, 1990. p. 46-72.
- WEIR, B.S. *Genetic data analysis II. Method for discrete population genetic data sunderland*. Massachusetts: Sinauer Associates, 1996. 445p.
- WEIR, B.S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, v. 38, n. 6, p. 1358-1370, 1984.
- WEISS, G. H.; KIMURA, M. A mathematical analysis of the stepping stone model of genetic correlation. *Journal of Applied Probability*, v. 2, p.129-149, 1965.
- WICKNESWARI, R.; NORWATI, M. Genetic diversity of natural populations of *Acacia auriculiformis*. *Australian Journal of Botany*, v. 41, n. 1, p. 65-77, 1993.
- WIESE, H. *Nova apicultura*. Porto Alegre: Agropecuária, 1985. 493p.
- WRIGHT, S. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, v. 16, p. 97-159, 1931.
- WRIGHT, S. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science*, v. 87, p. 430-431, 1938.

- WRIGHT, S. Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist*, v. 74, p. 232-248, 1940.**
- WRIGHT, S. Isolation by distance. *Genetics*, v. 28, n. 2, p. 114-138, 1943.**
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen*, v.15, p. 313-354, 1951.**
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, v.19, p. 395-420, 1965.**
- WRIGHT, S. Evolution and the genetics of populations. Chicago:University of Chicago, 1969. v. 2.: (The theory of gene frequencies.)**
- WRIGHT, S. Evolution and the genetics of populations. Chicago, University of Chicago,1978. v. 4.: (Variability within and among populations.)**
- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. 2nd. ed. New Jersey:Englewood Cliffs,1984. 718p.**