

Caracterização genética de populações naturais de
Xylopia emarginata Mart. (Annonaceae)Genetic characterization of *Xylopia emarginata*
Mart. (Annonaceae) natural populationsPeterson Jaeger¹, Márcia Cristina de Oliveira Moura²,
Eduardo van den Berg³ e Dulcinéia de Carvalho⁴**Resumo**

Xylopia emarginata Mart. é uma espécie de ocorrência nas matas de galerias, caracterizada pela sua tolerância às saturações hídricas potencializando-a para a recuperação dos ecossistemas ciliares. Com o objetivo de caracterizar geneticamente a espécie, foram estudadas duas populações naturais localizadas em campo rupestre, divididas naturalmente em cinco subpopulações, com altitude entre 940 e 1010 m, no município de Itumirim, MG (S 21°21'42,8"; W 44°46'0,52"). O processamento das amostras e as análises genéticas foram realizados no Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras. A equidade gênica observada na subpopulação 1 foi de 36%, na 2 de 9%, na 3 de 27% e de 72% nas subpopulações 4 e 5, indicando que as subpopulações 1, 2 e 3 apresentam menor variabilidade genética. As heterozigosidades observadas (\hat{H}_o) foram 0,484 e 0,722 e as esperadas (\hat{H}_e) 0,395 e 0,425 para as populações A e B, respectivamente. Estimativas significativas do índice de fixação (\hat{f}) ocorreram nas subpopulações 1 (-0,389), 4 (-0,45) e 5 (-0,848), ao contrário daquelas encontradas nas subpopulações 2 (-0,105) e 3 (-0,209). Os índices de diversidade genética demonstram a existência de excesso de heterozigotos entre as subpopulações ($\hat{F} = -0,29$). Somente as subpopulações 1 x 4, 2 x 3, 4 x 5 não apresentaram divergência genética. Os baixos níveis de fluxo alélico detectados entre algumas subpopulações possivelmente são devidos à presença do divisor d'águas, que pode estar atuando como barreira física. Elevada identidade genética foi observada entre as subpopulações 1 e 4, confirmando os resultados obtidos de fluxo alélico. As subpopulações 1, 4 e 5 são mais próximas geneticamente, mesmo estando mais distantes geograficamente, o que pode ser explicado pelo fluxo alélico. Dados dessa natureza são importantes para programas de coleta de sementes visando a conservação genética da espécie.

Palavras-chave: Aloenzimas, Divergência genética, Fluxo alélico

Abstract

Xylopia emarginata Mart., a tree species that grows in the riparian forests, is characterized by its tolerance to water-saturated soils, which enables its use for restoration of riparian ecosystems. The objective of this study was to determine the genetic structure, levels of genetic variability and gene flow in two natural populations divided naturally in five sub-populations, with altitude ranging from 940 to 1010 m. The populations are located at Itumirim (S 21°21'42,8"; W 44°46'0,52"), in Southern Minas Gerais state. Samples of leaf tissue were taken from adult plants from each population for isoenzyme electrophoresis analysis. The genetic equity in sub-population 1 was 36%; in 2 was 9%, in 3 was 27%; and in 4 and 5 was 72%. These values indicate that the sub-populations 1, 2 and 3 can be more subject to genetic drift. The observed heterozygosity (\hat{H}_o) was 0.484 in the A population and 0.722 in the B population. The expected heterozygosity (\hat{H}_e) was 0.395 and 0.425 in the A and B populations respectively. The estimated parameters revealed no inbreeding in the populations ($\hat{F} = -0.29$). The low gene flow estimated among sub-populations could be due to the presence of a mountain ridge, which may be acting like a geographic barrier. This result was confirmed by the high genetic identity between the sub-populations 1 and 4. The sub-populations 1, 4 and 5 are closer genetically, even being more distant geographically. These data are important to seed collection programs aiming genetic conservation.

Keywords: Allozyme, Genetic Divergence, Gene Flow

¹Professor Assistente da Universidade do Contestado – Campus Canoinhas/Porto União – Rua Joaquim Nabuco, 314 – Porto União, SC – 89400-000 - E-mail: peterston_jaeger@yahoo.com.br

²Doutora em Engenharia Florestal pelo Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 3037 – Lavras, MG – 37200-000 - E-mail: marcica_moura@hotmail.com

³Professor Doutor do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 3037 – Lavras, MG – 37200-000 - E-mail: evandenb@ufla.br

⁴Professora Doutora do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 3037 – Lavras, MG - 37200-000 - E-mail: dulce@ufla.br

INTRODUÇÃO

Os principais objetivos da genética de populações são descrever a quantidade de variação genética em populações e estudar o mecanismo de manutenção dessa variabilidade (NEI, 1987). Esta variabilidade é a base para mudanças evolutivas futuras e, níveis diferentes de variabilidade em populações distintas podem fornecer evidências para eventos evolutivos anteriores (WEIR, 1990). Partindo destas informações, têm-se condições de planejar o manejo de espécies e a recomposição de áreas que foram alteradas por alguma ação antrópica, de maneira a permitir a viabilidade genética dessa população implantada e, conseqüentemente, a manutenção dos processos evolutivos locais.

Considerando os processos de fragmentação que ocorrem em todo o país, inclusive no bioma Cerrado, e que este é uma das formações naturais mais ameaçadas do planeta, incluso entre os *Hots-pots* (MITTERMEIER *et al.*, 1999), identifica-se a necessidade de conhecer esse patrimônio natural, a fim de conservá-lo e utilizá-lo de forma sustentável, em função da importância da diversidade biológica nele existente. Entre as várias tipologias vegetais do Brasil Central, as matas de galeria constituem um dos mais importantes elementos da paisagem, ocorrendo em estreitas faixas nos fundos de vales e, embora cobrindo uma proporção relativamente pequena da superfície, possuem uma importância ecológica considerável no contexto dos cerrados (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 1990).

Nestas matas de galeria, é comum a presença da espécie arbórea *Xylopia emarginata* Mart., sendo descrita como planta perenifólia, característica de terrenos alagadiços onde, nestes locais, forma maciços homogêneos. Ocorre principalmente em formações secundárias de quase todas as tipologias florestais, porém sempre em terrenos alagadiços de beira de rios. Sua presença no interior da mata primária densa é menos comum. Ratter (1971) descreve a *X. emarginata* como uma espécie alta, muitas vezes emergente, com tronco fino e reto e, com copa estreita. Estas descrições fazem com que a espécie dê a aparência característica de muitas matas de galeria. A ocorrência natural de *X. emarginata* é registrada no Distrito Federal (RATTER, 1971), no Mato Grosso (OLIVEIRA-FILHO, 1989), no triângulo mineiro (SCHIAVINI, 1992), e desde a Bahia até São Paulo (LORENZI, 2000).

Na tentativa de se conhecer a estrutura de populações naturais de *X. emarginata*, este estudo

teve como objetivos quantificar a variabilidade genética entre e dentro de populações desta espécie, verificar a aderência das proporções genotípicas às proporções de Hardy-Weinberg, determinar o fluxo gênico interpopulacional e estimar o tamanho efetivo das populações.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A região de estudo está localizada a 14 Km da sede do município de Itumirim (MG), sob as coordenadas S 21°21'42,8" e W 44°46'05,2". A área de estudo caracteriza-se pela presença de matas de galeria, que apresentam limites bem definidos com uma formação não florestal (campo limpo), com altitude média de 1000 m e eventualmente interrompida por afloramentos rochosos, que originam pequenas quedas d'água.

Caracterização das populações

Cinco subpopulações de *X. emarginata* foram estudadas em dois diferentes cursos d'água. Cada subpopulação é o resultado de uma interrupção natural da vegetação ao longo do curso d'água, a qual dá lugar a afloramentos rochosos, característicos da formação local. Dessa forma, foram denominadas duas populações: População A - constituída pelas subpopulações 1, 2 e 3, pertencentes ao Córrego Batatal e, População B - constituída pelas subpopulações 4 e 5, pertencentes ao Córrego Farias.

Os cursos d'água pertencem a duas microbacias adjacentes, delimitadas por um divisor de águas comum. Este divisor acentua-se ao longo das microbacias, formando uma barreira natural nas menores altitudes locais (900 a 980 m). Nas maiores altitudes (acima de 980 m), este divisor é menos acentuado, tornando-se inexistente nas áreas mais elevadas. As distâncias geográficas entre as subpopulações (Tabela 1) foram tomadas com base nos pontos amostrais mais próximos entre cada uma das subpopulações, quando tomadas aos pares.

Tabela 1. Altitude e distância em metros entre as subpopulações estudadas de *Xylopia emarginata* Mart. (Altitude and distance in meters between the studied subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

Sub-populações	Altitude (m)	Área (ha)	1	2	3	4
1	1000	1,41	*	*	*	*
2	980	0,32	70	*	*	*
3	930	0,25	540	270	*	*
4	1020	0,42	950	1220	1690	*
5	950	0,21	1580	1850	2320	310

Amostragem das árvores

Para os estudos da estrutura genética e índices de diversidade foram coletadas folhas em árvores adultas em cada subpopulação. A amostragem foi de acordo com Martins (1993), sendo coletados, por quadrante, dois indivíduos de *X. emarginata* de maior altura e fisicamente próximos. A altura média dos indivíduos foi de 9,26 m. Esta metodologia foi utilizada em virtude da pequena área de mata de galeria, que não permitiu atingir um número amostral de acordo com o recomendado para trabalhos de estrutura genética de populações. O número de árvores amostradas em cada subpopulação consta na Tabela 2.

Tabela 2. Número de indivíduos amostrados nas populações e subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. (Individuals numbers sampled in populations and subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

	Subpopulação	Número de indivíduos
População A	1	29
	2	24
	3	10
População B	4	16
	5	10

Extração e eletroforese aloenzimáticas

Para a extração utilizou-se a proporção de 0,5g de material vegetal para 1,5 ml de solução extratora (ALFENAS *et al.*, 1998). Após a maceração, o produto foi centrifugado e o sobrenadante aplicado ao suporte de géis de poliácridamida, composto pelo gel de concentração (4,5%) e de separação (12,5%). Procedeu-se, então, à aplicação de corrente elétrica proporcionando a migração das aloenzimas. A corrente elétrica aplicada foi constante (10 mA em cada gel) e o tempo médio de corrida foi de três horas. A revelação das aloenzimas seguiu o protocolo descrito por Alfenas *et al.* (1998).

Análise dos dados

A identificação 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 são identificadas, aquela com maior migração foi denominada alelo-1 e a outra de alelo-2. Da mesma forma foram identificados os locos presentes em cada sistema enzimático. A interpretação de cada sistema enzimático foi realizada seguindo os padrões descritos em trabalhos do gênero (SOLTIS e SOLTIS, 1989; KEPHART, 1990; ALFENAS, 1998).

As frequências alélicas descrevem a variação para um loco e foram obtidas pelo software

BIOSYS 2 (SWOFFORD e SELANDER, 1989), por meio da contagem direta do número de um dado alelo por loco, dividido pelo número total de alelos naquele loco. A partir das frequências alélicas foram obtidos os seguintes índices de diversidade genética: heterozigose média observada (\hat{H}_o), heterozigose média esperada (\hat{H}_e) de acordo com as proporções de Hardy-Weinberg, número médio de alelos por loco (\hat{A}), porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}). Os índices de diversidade foram obtidos com o auxílio do software GDA – *Genetics Data Analysis* (LEWIS e ZAYKIN, 2001). A heterozigose observada (\hat{H}_o) para cada loco foi obtida pela razão entre o número total de heterozigotos e o número de indivíduos. A heterozigose esperada (\hat{H}_e) para cada loco em uma dada população, foi obtida a partir das frequências alélicas, segundo frequências genotípicas esperadas conforme Equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1987).

A porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}) foi obtida pela proporção do número de locos polimórficos pelo número total de locos. Um loco é considerado polimórfico quando a frequência de seu alelo mais comum não ultrapassar 0,99, entretanto, foi utilizado 0,95, como sugerido por Nei (1987) para amostras inferiores a 50 indivíduos. O número médio de alelos por loco (\hat{A}) em cada população foi obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos.

O parâmetro utilizado para medir o grau de fixação alélica resultante da endogamia foi o coeficiente F de Wright (1931). Estes foram obtidos a partir de locos e de média entre locos a partir das seguintes relações: $f = 1 - \hat{H}_o/\hat{H}_e$ (locos) e $\bar{f} = 1 - \Sigma \hat{H}_o/\Sigma \hat{H}_e$ (média entre locos), onde f é a estimativa do índice de fixação de Wright. O estudo de estrutura genética entre e dentro de populações foi feito mediante o critério de coancestralidade de Cokerham obtido pelo software GDA (Lewis e Zaykin, 2001).

O fluxo alélico foi obtido a partir da metodologia proposta por Wright (1951), a qual considera a quantidade de migrantes ($\hat{N}m$) e a divergência genética entre populações (\hat{F}_{ST}). De acordo com Cokerham e Weir (1993), o emprego de $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado do que \hat{F}_{ST} : $\hat{N}m = 1/4(m(m-1)^2[1/\hat{\theta}_p - 1])$, onde $\hat{\theta}_p$ representa a divergência genética entre populações e m o número de populações amostradas.

Para o cálculo do estimador do tamanho efetivo das populações foram utilizados métodos baseados em variância das frequências alélicas,

para indivíduos adultos de uma simples população, $\hat{N}_e = n/(1 + f)$ sendo n é o número de indivíduos e f o coeficiente de endogamia médio da população (VENCOVSKY, 1992).

A distância genética entre cada subpopulação (D) foi calculada conforme proposto por Nei (1978), com auxílio do programa BIOSYS-2 (SWOFFORD e SELANDER, 1989), obtendo-se a estimativa não viesada e aplicando-a ao método UPGMA de agrupamento, para a construção do dendrograma. $\hat{D} = -\ln \hat{I}$ e $\hat{I} = \hat{J}_{xy} / \sqrt{\hat{J}_x \hat{J}_y}$, onde \hat{J}_{xy} é $(\sum_i \sum_j X_i X_j) / r$; \hat{J}_x é $(\sum_i (2n_x \sum_j X_j - 1) / (2n_x - 1)) / r$; \hat{J}_y é $(\sum_i (2n_y \sum_j Y_j - 1) / (2n_y - 1)) / r$. Sendo \hat{I} a Identidade genética não viesada; X_i a frequência do alelo i na população X ; Y_i a frequência do alelo i na população Y e, r o número de locos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seis sistemas aloenzimáticos foram selecionados em função de sua resolução: beta-esterase (β -EST), glucose desidrogenase (GDH), glutamato desidrogenase (GTDH), malato desidrogenase (MDH), peroxidase (PO) e sorbitol desidrogenase (SDH), nos quais foram analisados 11 locos.

Os dados das frequências alélicas são apresentados na Tabela 3. Na população A, as maiores frequências alélicas foram verificadas em Sdh-2 (alelo 1 = 0,87), Gtdh-2 (alelo 1 = 0,82) e Mdh-1 (alelo 1 = 0,82) e na população B, nos locos β -Est-1 (alelo 2 = 0,92), Mdh-2 (alelo 2 = 0,92) e Mdh-1 (alelo 1 = 0,78). Entre as cinco subpopulações, os alelos mais frequentes variaram entre 0,69 (alelo 1, Gdh-2) e 0,83 (alelo 1- Mdh-1; Sdh-2) na subpopulação 1 até a completa fixação (alelo 2, β -Est-1) na subpopulação 5. Nas subpopulações 1, 2 e 3, a maioria dos locos apresentou alelos com alta frequência (acima de 0,65), enquanto que, nas subpopulações 4 e 5 os alelos com alta frequência estão presentes em poucos locos. Os alelos 1 dos locos Gdh-2, Gtdh-2, Mdh-1, Po-2 e Sdh-2 foram os mais frequentes e comuns em todas as subpopulações.

Segundo as frequências alélicas obtidas, observou-se que na subpopulação 1, 36% dos locos apresentam equidade alélica (ou baixa amplitude de variação). Essa proporção é de 9% na subpopulação 2, 27% na subpopulação 3 e 72% nas subpopulações 4 e 5. Frankel *et al.* (1996), conceituam a equidade alélica como um indicador de diversidade, medida pela amplitude de variação nas frequências alélicas. Uma espécie

que apresenta equidade alélica pode estar menos susceptível à fixação e perda de alelos quando suas populações são submetidas a perturbações e gargalos genéticos. As subpopulações 1, 2 e 3 por apresentarem um maior número de alelos em baixa frequência, podem estar mais sujeitas à redução da variabilidade genética e, portanto, estarem mais susceptíveis aos efeitos de mudanças ambientais. Ao contrário, as subpopulações 4 e 5, apresentam, nesta geração uma maior frequência de alelos comuns, indicando maior potencial adaptativo, caso ocorram perturbações nestes locais.

Os índices de variabilidade genética são mostrados na Tabela 4. O número efetivo de alelos foi de 1,67 na população A e 1,79 na população B. Entre as subpopulações, esta estimativa variou entre 1,52 (subpopulação 2) até 1,79 (subpopulação 5). Este número foi próximo ao detectado por Pinto e Carvalho (2004) que encontraram 1,9 alelos por loco para a espécie congênera *Xylopia brasiliensis* Sprengel. Em longo prazo, a redução da riqueza alélica pode limitar a habilidade das espécies a responderem às mudanças devidas à ação de forças seletivas (ELLSTRAND e ELLAN, 1993).

As heterozigosidades observadas (\hat{H}_o) nas populações A e B foram respectivamente 0,48 e 0,72. As estimativas da heterozigosidade média observada foram maiores que as esperadas em todas as subpopulações (Tabela 4). As subpopulações 1 e 3 e 2 e 3 não demonstraram diferenças em relação à heterozigosidade observada, segundo o desvio padrão apresentado. As subpopulações 1, 4 e 5 mostraram semelhança em relação aos índices de heterozigosidade observada. Os valores estimados para as heterozigosidades observadas nas populações de *X. emarginata* estão acima da média dos relatados para outras espécies arbóreas, sendo considerados altos, levando em conta aqueles descritos para *Copaifera langsdorffii* Desf. com \hat{H}_o de 0,203 (OLIVEIRA, 2000), *Calophyllum brasiliensis* com \hat{H}_o de 0,141 (KAWAGUICI e KAGEYAMA, 2001); *Cariniana legalis* com \hat{H}_o variando de 0,263 a 0,287 (SEBENN *et al.*, 2000). As heterozigosidades esperadas (\hat{H}_e) foram de 0,395 para população A e 0,425 para a população B. Estes valores foram próximos aos detectados em duas populações de *X. brasiliensis* 0,313 e 0,424 (PINTO e CARVALHO, 2004). As heterozigosidades esperadas foram muito próximas entre as subpopulações, sendo que o menor valor foi encontrado na subpopulação 2 (0,342).

Tabela 3. Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) das populações e das subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. (Alleles frequency and sample size (n) in populations and subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

Locos	Alelos	População		Subpopulação				
		A	B	1	2	3	4	5
β Est-1	(n)	61	26	27	24	10	16	10
	1	0,46	0,08	0,24	0,60	0,70	0,12	0,00
	2	0,54	0,92	0,76	0,39	0,30	0,88	1,00
Gdh-2	(n)	61	26	29	23	9	16	10
	1	0,71	0,56	0,69	0,78	0,61	0,59	0,50
	2	0,29	0,44	0,31	0,22	0,34	0,41	0,50
Gdh-3	(n)	45	26	23	14	8	16	10
	1	0,33	0,50	0,46	0,21	0,19	0,50	0,50
	2	0,67	0,50	0,54	0,79	0,81	0,50	0,50
Gtdh-2	(n)	61	26	29	23	9	16	10
	1	0,82	0,54	0,78	0,87	0,83	0,56	0,50
	2	0,18	0,46	0,22	0,13	0,17	0,44	0,50
Gtdh-3	(n)	57	26	29	18	10	16	10
	1	0,30	0,48	0,40	0,20	0,20	0,47	0,50
	2	0,70	0,52	0,60	0,80	0,80	0,53	0,50
Mdh-1	(n)	63	25	29	24	10	15	10
	1	0,82	0,78	0,83	0,83	0,75	0,80	0,75
	2	0,18	0,22	0,17	0,17	0,25	0,20	0,25
Mdh-2	(n)	39	24	23	11	5	14	10
	1	0,29	0,08	0,26	0,27	0,50	0,07	0,10
	2	0,71	0,92	0,74	0,73	0,50	0,93	0,90
Po-2	(n)	63	26	29	24	10	16	10
	1	0,72	0,63	0,74	0,69	0,75	0,63	0,65
	2	0,23	0,37	0,26	0,31	0,25	0,37	0,35
Po-3	(n)	61	26	27	24	10	16	10
	1	0,38	0,46	0,41	0,35	0,40	0,44	0,50
	2	0,62	0,54	0,59	0,65	0,60	0,56	0,50
Sdh-2	(n)	63	26	29	24	10	16	10
	1	0,87	0,538	0,83	0,92	0,85	0,56	0,50
	2	0,13	0,462	0,17	0,08	0,15	0,44	0,50
Sdh-3	(n)	55	26	26	20	9	16	10
	1	0,30	0,50	0,44	0,15	0,22	0,50	0,50
	2	0,70	0,50	0,56	0,85	0,78	0,50	0,50

Tabela 4. Variabilidade genética das populações e subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. determinada com base em 11 locos gênicos: A_e - Número efetivo de alelos por loco; H_o - heterozigidade observada; H_e - heterozigidade esperada; f - índice de fixação de Wright. (Genetic variability of populations and subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.: A_e - Number of efetive alleles per locus; H_o - Observed heterozigosity; H_e - Expected heterozigosity; f - Wright's index fixation).

	A_e	H_o	H_e	f
A	1,67 (0,27)	0,484 (0,06)	0,395 (0,03)	- 0,23 [-0,42 a 0,06]
B	1,79 (0,33)	0,722 (0,12)	0,425 (0,04)	- 0,72 [-0,51 a -0,86]
1	1,70 (0,22)	0,566 (0,07)	0,411 (0,02)	- 0,39 [-0,57 a -0,12]
2	1,52 (0,23)	0,377 (0,06)	0,342 (0,03)	- 0,10 [-0,34 a 0,22]
3	1,66 (0,21)	0,476 (0,06)	0,399 (0,03)	- 0,21 [-0,39 a 0,01]
4	1,78 (0,32)	0,695 (0,12)	0,432 (0,04)	- 0,64 [-0,81 a -0,39]
5	1,79 (0,36)	0,764 (0,11)	0,432 (0,05)	- 0,89 [-1,00 a -0,66]

() - desvio padrão; [] - intervalo de confiança.

A relação entre os índices de heterozigidade observada e esperada, gerou valores de fixação negativos, indicando o excesso de heterozigotos, tanto para as populações como para as subpopulações (Tabela 4). Os valores mais acentuados de fixação ocorreram nas subpopulações 1 (-0,39), 4 (-0,64) e 5 (-0,89), sendo estes significativos. Valores não significativos foram en-

contrados para as subpopulações 2 (-0,10) e 3 (-0,21) indicando que estas se encontram nas proporções de Hardy-Weinberg. Nas populações A e B os índices de fixação demonstram aderência ao EHW na primeira e excesso de heterozigotos na segunda. A aderência da população A ao EHW é devida aos valores de fixação obtidos nas subpopulações 2 e 3.

O excesso de heterozigotos decorre, possivelmente, de efeitos de seleção em favor dos mesmos e têm sido descritos para várias espécies tropicais (SEBBENN *et al.*, 2003; MELO JUNIOR *et al.*, 2004). Altos valores de heterozigosidade indicam elevados níveis de variabilidade genética, possibilitando a ocorrência de um grande número de novas combinações genotípicas, aumentando o potencial evolutivo das espécies, pela maior capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais (SEBBENN *et al.*, 2000).

Verificou-se a ausência de endogamia entre as subpopulações ($\hat{F} = -0,29$), demonstrada pelo excesso significativo de heterozigotos (Tabela 5). Isto sugere que as proporções genotípicas para o total da população não se encontram nas proporções de Hardy-Weinberg. A ausência de endogamia foi verificada para o conjunto das populações e para as mesmas quando tomadas duas a duas, sendo significativas nas estimativas entre as subpopulações 1 x 4 (-0,44), 1 x 5 (-0,42), 3 x 4 (-0,26) e 4 x 5 (-0,73).

Tabela 5. Índice de fixação (\hat{F}) e fluxo alélico ($\hat{N}m$) para cada par de subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. obtidos a partir de divergência genética ($\hat{\theta}_p$). (Fixation index (\hat{F}) and Gene flow ($\hat{N}m$) for subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart., determined by genetic divergence ($\hat{\theta}_p$)).

Subpopulações	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	$\hat{N}m$
1 x 2	-0,20	0,06 [0,01 a 0,07]	0,93
1 x 3	-0,25	0,07 [0,01 a 0,07]	0,77
1 x 4	-0,44	0,03 [0,01 a 0,07]	2,02
1 x 5	-0,42	0,06 [0,01 a 0,07]	1,05
2 x 3	-0,15	0,006 [0,01 a 0,07]	10,3
2 x 4	-0,16	0,15 [0,01 a 0,07]	0,34
2 x 5	-0,09	0,20 [0,01 a 0,07]	0,24
3 x 4	-0,26	0,16 [0,01 a 0,07]	0,33
3 x 5	-0,25	0,19 [0,01 a 0,07]	0,25
4 x 5	-0,73	0,003 [0,01 a 0,07]	20,7
Total	-0,29 [-0,50 a -0,01]	0,08 [0,01 a 0,07]	

A divergência genética entre as cinco populações ($\hat{\theta}_p$) foi de 0,08, indicando que 8,0% da variabilidade genética encontra-se entre as subpopulações e 92,0% dentro das mesmas. Para espécies arbóreas tropicais, Hamrick e Godt (1990) observaram que, em média, 82% da va-

riabilidade genética total se concentram dentro das populações. Portanto, os resultados observados da divergência genética estão de acordo com o esperado para espécies arbóreas. Considerando os pares de subpopulações, não foi detectada divergência genética entre as subpopulações 2 x 3 ($\hat{\theta}_p = 0,006$) e 4 x 5 ($\hat{\theta}_p = 0,003$). A ausência de divergência genética entre estes pares de subpopulações pode ser devida à ocorrência de fluxo alélico entre elas. Entre as demais subpopulações verificou-se a existência de divergência genética (Tabela 5).

O fluxo alélico entre as subpopulações 1 x 4, 2 x 3 e 4 x 5 mostrou-se suficiente para contrapor os efeitos de deriva. Segundo Wright (1931), a deriva genética resulta em diferenciação populacional se o número de migrantes (Nm) for menor que 1,0. Considerando que a dispersão da *X. emarginata* é ornitocórica (LORENZI, 2000), a movimentação de pássaros nessas subpopulações é de extrema importância para o fluxo alélico entre elas. Assim, a manutenção dos processos biológicos das populações, aqui estudadas, depende da manutenção da fauna para movimentação dos alelos. Os baixos níveis de fluxo alélico apresentados entre as subpopulações 2 x 4 (0,34), 2 x 5 (0,24), 3 x 4 (0,33) e 3 x 5 (0,25) podem ser explicados pela presença acentuada do divisor d'águas, que pode estar atuando como barreira geográfica e evitando o fluxo alélico entre essas subpopulações. Ressalta-se que a topografia local propicia a separação geográfica dos cursos d'água, por meio de um divisor de águas, impedindo o fluxo alélico entre as subpopulações localizadas nas partes mais baixas e íngremes. Apesar disto, observou-se um fluxo gênico mais elevado entre as subpopulações 1 e 4 ($\hat{N}m = 2,02$), localizadas em cursos d'água diferentes. Portanto, em altitudes mais elevadas esta barreira geográfica é atenuada, possibilitando a passagem direta de dispersores e polinizadores.

Os tamanhos efetivos das subpopulações (\hat{N}_e) variaram de 13 até 66 (Tabela 6). Nas subpopulações 2 e 3, o tamanho efetivo foi próximo ao número de indivíduos amostrado, sendo que estas estão nas proporções de Hardy-Weinberg. As demais subpopulações apresentaram estimativas mais elevadas de tamanho efetivo. Isto se deve ao excesso de heterozigotos observado. Como os heterozigotos carregam dois alelos diferentes, eles representam um número maior de indivíduos na população. Como a equação utilizada, proposta por Vencovsky (1992), relaciona o tamanho da amostra e o índice de fixação da população, a

representatividade será sempre maior em condições de heterozigose (SEBBENN *et al.*, 2003).

Tabela 6. Estimativa do tamanho efetivo (\hat{N}_e) encontrado nas subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. (Effective size estimative (\hat{N}_e) for five subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

Subpopulação	n	\hat{N}_e
1	29	47
2	24	27
3	10	13
4	16	44
5	10	66

n- Tamanho da amostra

A distância genética - obtida pelo logaritmo das identidades genéticas entre as subpopulações - expressa a diferença entre as subpopulações estudadas, baseada no índice de divergência (θ_p). As estimativas de distância e identidade genéticas são mostradas na Tabela 7. Com esses dados foi possível visualizar as relações mantidas entre as subpopulações, agrupando-as de acordo com sua proximidade genética.

Tabela 7. Distância (abaixo da diagonal) e identidade genéticas (acima da diagonal) entre as cinco subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. (Distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) between five subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

Subpopulação	1	2	3	4	5
1	-	0,96	0,95	0,98	0,97
2	0,04	-	1,00	0,89	0,86
3	0,05	0,00	-	0,88	0,85
4	0,01	0,10	0,12	-	1,00
5	0,03	0,14	0,15	0,00	-

As subpopulações localizadas no mesmo curso d'água foram mais próximas geneticamente, sendo que 4 x 5 localizadas no Córrego Farias apresentaram alta identidade genética ($I = 1,00$). Confirmando os resultados obtidos de fluxo alélico, as subpopulações 1 e 4 apresentaram elevada identidade genética ($I = 0,98$), mesmo fazendo parte de populações distintas, A e B, respectivamente. As subpopulações 3 e 5 apresentaram o menor valor de identidade genética ($I = 0,85$).

O dendrograma gerado pelos dados de identidade é apresentado na Figura 1, onde é possível verificar a existência de dois grupos principais, sendo o primeiro formado pelas subpopulações 1, 4 e 5, detentoras da maior parte da heterozigidade local (0,566, 0,695 e 0,764, respectivamente) e o segundo pelas subpopulações 2 e 3, que se encontram nas proporções de Hardy-Weinberg. Esta afirmativa é baseada no raciocínio de cálculo utilizado, o qual considera as frequências alélicas em cada subpopulação (NEI, 1978).

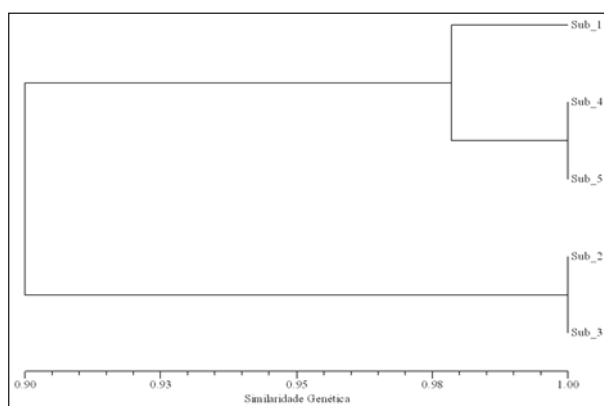


Figura 1. Dendrograma de similaridade genética entre cinco subpopulações de *Xylopia emarginata* Mart. (Dendrogram Similarity between five subpopulations of *Xylopia emarginata* Mart.).

O padrão demonstrado pelo dendrograma não era esperado, pois seria plausível uma maior similaridade entre as subpopulações pertencentes ao mesmo curso d'água e por aquelas mais próximas geograficamente. Porém, como demonstrado pelo dendrograma, a subpopulação 1 é geneticamente próxima às subpopulações 4 e 5, mesmo localizadas em cursos d'água distintos e distantes espacialmente (950 e 1580 m, respectivamente). O intenso fluxo alélico entre as subpopulações 1 e 4, localizadas em cursos d'água distintos, é possivelmente facilitado pela ausência de uma barreira natural entre estas, pois estão situadas na parte mais elevada e plana do terreno. Também é possível que forças seletivas estejam atuando de forma contrária aos heterozigotos nas subpopulações 2 e 3, pertencentes ao mesmo curso d'água, mas com baixo fluxo alélico.

CONSIDERAÇÕES PARA O MANEJO DA ESPÉCIE

A variabilidade genética de *X. emarginata* mostrou-se alta nas populações estudadas, demonstrando potencial para serem utilizadas em programas de conservação genética ou em revegetação de áreas ciliares.

Em programas de produção de mudas devem-se priorizar as coletas de sementes em árvores nas duas populações A e B. A coleta em populações com divergência genética representa a variabilidade genética de forma mais adequada. Neste caso, especial atenção deve ser dada à população A, cujas subpopulações apresentam divergência genética.

Os tamanhos efetivos das subpopulações foram variáveis (13 a 66), portanto o número de árvores para a coleta de sementes em cada sub-

população deve-se ser próximo ao tamanho efetivo. Caso sejam realizadas coletas de sementes nestas áreas, recomenda-se a coleta de sementes de aproximadamente 30 árvores, na População A, localizada no Córrego Batatal. Para a População B, localizada no Córrego Farias, recomenda-se a coleta de sementes de aproximadamente 55 árvores e, desta forma, assegurar-se-ia a manutenção do patrimônio genético da espécie.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão das bolsas de Mestrado e Produtividade em Pesquisa concedida ao primeiro e último autor. Agradecem as sugestões feitas pelos revisores. Finalmente, agradecem a todos que, de alguma forma, participaram na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, C.A.; PETER, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574p.

COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of gene flow from F-Statistics. **Evolution**, Washington, v.47, n.3, p.855-863, 1993.

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

ELLSTRAND, N.C.; ELLAN, D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.24, p.217-242, 1993.

FRANKEL, O.H.; BROWN, A.H.D.; BURDON, J.J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 299p.

HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A.; NASON, J.D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**, Dordrecht, v.107/108, p.281-297, 1998.

HEYWOOD, J. S. **Spatial autocorrelation analysis**. Version 1.01

KAWAGUICI, C.B.; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* em uma população de mata de galeria. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.59, p.131-143, 2001.

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

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

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data - Version 1. 0 (d15)**. Disponível em: <<http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>>. Acesso em: 20/05/2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual para identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 3.ed. Nova Odessa : Editora Plantarum, 2000. v.1 352p.

MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N; MITTERMEIER, C.G. **Hotspots: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Cemex: Conservation International, 1999. 430p.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Washington, v.89, p.583-590, 1978.

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

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

OLIVEIRA-FILHO, A.T. Composição florística e estrutura comunitária da floresta de galeria do córrego da Paciência, Cuiabá (MT). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v.3, n.1, p.91-112, 1989.

OLIVEIRA-FILHO, A.T.; RATTER, J.A.; SHEPHERD, G.J. Floristic composition and community structure of a central Brazilian gallery Forest. **Flora**, Jena, v.184, p.103-107, 1990.

- PINTO, S.I.C; CARVALHO, D. Estrutura genética de populações de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Sprengel) por isoenzimas. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.27, n.3, p.597-605, 2004.
- RATTER, J.A. **Notas sobre a vegetação da Fazenda Água Limpa (Brasília, DF)**. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, 1971. (Coleção Textos Universitários, n.3)
- REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis*)**. 1996. 209p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- SCHIAVINI, I. **Estrutura de comunidades arbóreas de mata de galeria da Estação Ecológica do Panga (Uberlândia-MG)**. 1992. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.
- SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOVSKY, R. Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n. 63, p.13-22, 2003.
- SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; ZANATTO, A.C.S. Sistema de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.58, p.25-40, 2000.
- SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.). **Isoenzymes in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, 1989. p.5-45.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. **Biosys-1: a computer program analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics, release 1,7**. Chicago: Illinois Natural History Survey, 1989. 43p.
- VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.15, Suplemento 1, p.53-60, 1992.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. 377p.
- WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, Bethesda, v.16, p.97-159, 1931.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, New York, v.15, p.395-420, 1951.