

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* Camb.
NA BACIA DO ALTO RIO GRANDE**

ANDERSON MARCOS DE SOUZA

2006

ANDERSON MARCOS DE SOUZA

**ESTRUTURA GENÉTICA
DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* Camb.
NA BACIA DO ALTO RIO GRANDE**

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

Orientadora
Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

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

Souza, Anderson Marcos de

Estrutura genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. na
bacia do alto Rio Grande / Anderson Marcos de Souza. – Lavras : UFLA, 2006.

154 p. : il.

Orientadora: Dulcinéia de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Calophyllum brasiliens*. 2. Isoenzimas. 3. Estrutura genética. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.973163

ANDERSON MARCOS DE SOUZA

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS
DE *Calophyllum brasiliense* Camb. NA BACIA
DO ALTO RIO GRANDE**

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

APROVADA em 04 de setembro de 2006.

Prof. Dr. Eduardo van den Berg - UFLA

Prof. Dr. Eduardo Leite Borba – UFMG

Profª. Dra. Maria Bernadete Lovato – UFMG

Pesquisador Dr. Miguel Luiz Menezes Freitas - Instituto Florestal-SP

Profª. Dra. Dulcinéia de Carvalho - UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que esta etapa fosse alcançada e por estar presente em todos os momentos.

Ao Departamento de Ciências Florestais, em especial ao programa de pós-graduação, pela oportunidade de realizar este trabalho.

À professora Dulcinéia de Carvalho, pela orientação, convivência e amizade.

Ao professor Sebastião Carlos da Silva Rosado, pela amizade e companheirismo.

Aos grandes amigos do Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos, Cristiane, Evânia, Fábio, Carol, Miram, Alison, Márcia, Peterson, Joema, Regiane, Sheila, Marília, Livia, Silvia, Afrânio, Murilo e Rogério, pelos grandes momentos compartilhados e pela ajuda na execução deste trabalho.

Aos estagiários e amigos da ESMA, Flávio e Rodrigo, e da UNILAVRAS, Leandra e Danielle, pela grandiosa ajuda nos trabalhos de campo e de laboratório.

Aos funcionários do Viveiro Florestal da UFLA, José Pedro e José Carlos, pelas primeiras coletas realizadas no campo.

A todos os amigos do curso de pós-graduação em Engenharia Florestal da UFLA, em especial Luciana, Gleice, Edmilson, Gislene, Tati, Evandro, Érica, Israel, Ferdinando, Rubens e Fran.

A Nara, pelo incentivo, ajuda, amizade e amor, especialmente por ser tão presente em minha vida neste e em outros momentos e situações, sendo sempre muito companheira e dedicada.

A minha família, em especial meus pais, Marcos e Eunice, por apostarem, acreditarem e me incentivarem a buscar novas conquistas. Também, à minha irmã Mara, pelo companheirismo, amizade e dedicação.

Aos amigos que, mesmo estando longe, continuam sempre presentes Raquel, Lusía, Nilza, Reginaldo, Alcivânia e Gisele.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
1 INTRODUÇÃO	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	04
2.1 Ambientes ciliares	04
2.2 A espécie de estudo	07
2.3 Isoenzimas	11
2.4 Variabilidade genética	12
2.5 Estrutura genética	13
2.6 Fluxo gênico	15
2.7 Distribuição espacial	17
2.8 Tamanho efetivo	19
2.9 Sistema reprodutivo	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Caracterização das áreas de estudo	23
3.2 Populações amostradas nas áreas de mata ciliar	25
3.3 Populações amostradas nas áreas de floresta paludosa	26
3.4 Populações amostradas nas áreas de mata de galeria	27
3.5 Amostragem do material biológico	28
3.5.1 Mata Ciliar	28
3.5.2 Floresta Paludosa	29
3.5.3 Mata de Galeria	29
3.6 Extração das enzimas e eletroforese	30
3.7 Caracterização da variabilidade e estrutura genética	31
3.7.1 Variabilidade genética	31
3.7.2 Frequências alélicas	32
3.7.3 Índices de diversidade genética	32
3.7.4 Estrutura genética de populações	33
3.8 Fluxo gênico	39
3.9 Tamanho efetivo	41
3.10 Distribuição espacial dos genótipos	42
3.11 Análise de segregação	43
3.12 Análise do desequilíbrio de ligação	44
3.13 Sistema reprodutivo	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1 Sistemas enzimáticos	48
4.2 Mata Ciliar	49
4.2.1 Frequências alélicas	49
4.2.2 Índices de diversidade genética	53

4.2.3 Estrutura genética	56
4.2.4 Fluxo gênico	59
4.2.5 Distribuição espacial dos genótipos.....	60
4.2.6 Tamanho efetivo	62
4.2.7 Sistema reprodutivo	64
4.2.7.1 Padrões de segregação	64
4.2.7.2 Desequilíbrio de ligação	67
4.2.7.3 Aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg	68
4.2.7.4 Homogeneidade das frequências de pólen e óvulos	70
4.2.7.5 Taxas de cruzamento multilocos e unilocos	73
4.3 Floresta paludosa	80
4.3.1 Frequências alélicas	80
4.3.2 Índices de diversidade genética	82
4.3.3 Estrutura genética	84
4.3.4 Fluxo gênico	86
4.3.5 Distribuição espacial dos genótipos.....	88
4.3.6 Tamanho efetivo	92
4.4 Mata de Galeria	94
4.4.1 Frequências alélicas	94
4.4.2 Índices de diversidade genética	97
4.4.3 Estrutura genética	99
4.4.4 Fluxo gênico	101
4.4.5 Distribuição espacial dos genótipos.....	103
4.4.6 Tamanho efetivo	104
4.4.7 Sistema reprodutivo	106
4.4.7.1 Padrões de segregação	106
4.4.7.2 Desequilíbrio de ligação	108
4.4.7.3 Aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg	109
4.4.7.4 Homogeneidade das frequências de pólen e óvulos	111
4.4.7.5 Taxas de cruzamento multilocos e unilocos	113
4.5 Variabilidade genética de <i>C. brasiliense</i> em habitats distintos.....	118
4.6 Implicações para a conservação da espécie.....	129
5 CONCLUSÕES	131
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132

RESUMO

SOUZA, Anderson Marcos de. **Estrutura genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. na bacia do Alto Rio Grande.** 2006. 154 p. (Tese - Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

As Florestas Estacionais Semidecíduais ocorrem em grande parte do estado de Minas Gerais, sendo as formações ciliares consideradas uma das suas principais fisionomias. Devido a sua atuação como corredor ecológico e banco de material genético, essas formações garantem a conservação e a perpetuação de muitas espécies. Como os ambientes ciliares possuem características bem peculiares, há o desenvolvimento de espécies exclusivas nestas áreas. Dentre estas, *Calophyllum brasiliense* Camb. se destaca devido a sua plasticidade ecológica e preferência em colonizar solos com alta saturação hídrica, sendo considerada especialista em hábitat. Assim, a fim de se acessar e compreender os padrões da variabilidade genética inter e intrapopulacional de *C. brasiliense* nestes ambientes, bem como sua distribuição espacial e sistema reprodutivo, três hábitats de ocorrência desta espécie foram escolhidos: Mata Ciliar, Floresta Paludosa e Mata de Galeria. Em duas populações foram escolhidas, sendo amostradas 60 árvores em cada. Para a análise do sistema reprodutivo, foram coletados frutos em dois hábitats (Mata Ciliar e Mata de Galeria). A partir da análise de eletroforese de isoenzimas, os resultados obtidos mostraram alta heterozigosidade para a espécie, H_o variando de 0,355 a 0,468 nas árvores adultas e de 0,441 a 0,493 nas progênies. Os dados da estrutura genética indicaram a ocorrência de endogamia dentro e para o conjunto das populações amostradas na Mata Ciliar ($\hat{f} = 0,114$; $\hat{F} = 0,191$) e Floresta Paludosa ($\hat{f} = 0,060$; $\hat{F} = 0,185$). Em todas as populações a maior parte da variabilidade genética encontra-se distribuída dentro das populações. O fluxo gênico ($\hat{N}m$) foi baixo, demonstrando não ser suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética. As estimativas de tamanho efetivo mostraram que, apenas nas populações amostradas na Mata de Galeria, o valor do \hat{N}_e (130 indivíduos) foi superior ao número de indivíduos amostrados ($n = 120$). A estimativa do coeficiente de coancestria mostrou que as árvores mais próximas apresentaram maior similaridade genética. A distribuição espacial de *C. brasiliense* nos três hábitats mostrou-se altamente correlacionada com a alta umidade do solo e isto influenciando diretamente sua variabilidade genética e fluxo gênico. A análise de agrupamento não permitiu detectar uma relação entre hábitat de ocorrência e identidade genética e, também não foi evidenciada correlação entre distância

¹ Orientadora: Dulcinéia de Carvalho - UFLA

geográfica e identidade genética ($r_m = 0,063$). A análise das progênies indicou que a espécie é alógama ($\hat{t}_m = 0,996$) nas populações de Mata Ciliar e 0,974 na população da Mata de Galeria. O sistema reprodutivo indicou que nas populações amostradas na Mata Ciliar, a maior parte das suas progênies são originadas de cruzamentos biparentais ($\hat{P}_{IC} = 54,8\%$). Já na população amostrada em Mata de Galeria, grande parte de suas progênies são originadas por cruzamentos aleatórios ($\hat{P}_{MI} = 70,3\%$). Assim, independente do habitat, se faz necessário a conservação das populações naturais de *C. brasiliense*, já que, esta espécie demonstra certa fragilidade aos fatores que põem em risco a sua variabilidade genética, como o grau de degradação das suas populações e a falta de conectividade entre elas.

ABSTRACT

SOUZA, Anderson Marcos de. Genetic structure of natural populations of *Calophyllum brasiliense* Camb. in the Rio Grande water basin. 2006. 154p. (Thesis – Forestry Engineering Doctorate) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

The Subtropical Atlantic Forest is located in a large part of the State of Minas Gerais, and the riparian forest is one of its main physiognomies. Due to its performance as ecological corridor and genetic reservoir, this kind of forest assures the conservation and perpetuation of many species. As the riparian environments possess peculiar characteristics, there is the occurrence of typical species in these areas. Among them, *Calophyllum brasiliense* outstands due to its ecological plasticity and preference for settling waterlogged soils, being considered specialist in habitat. Thus, in order to assess and understand patterns of genetic variability inter and intra population of *C.brasiliense*, as well as its spatial distribution and reproductive system, three habitats were chosen: Riparian Forest, Swampy Forest and Gallery Forest. From each habitat, two populations were taken, being sampled 60 trees in each. For the reproductive system study, fruits were collected from two habitats (Riparian Forest and Gallery Forest). Results obtained by enzyme electrophoresis analysis showed a high heterozygosity for this species, \hat{H}_o ranging from 0.355 to 0.468 and from 0.441 to 0.493 for the reproductive trees and progenies, respectively. The genetic structure analysis indicated the occurrence of intra and inter population endogamy for Riparian Forest ($\hat{f} = 0.114$; $\hat{F} = 0.191$) and for Swampy Forest ($\hat{f} = 0.060$; $\hat{F} = 0.185$). Most of the genetic variability was distributed within each population and the gene flow ($\hat{N}m$) was low. The effective size estimative showed that only in the populations sampled in the Gallery Forest \hat{N}_e value (130 individuals) was higher than that of the sampled individuals (n = 120). The coancestry coefficient estimative showed that the closest trees presented higher genetic similarity. The space distribution of *C.brasiliense* in the three habitats, showed to be highly correlated with the high moisture of the soils, directly influencing its genetic variability and gene flow. The cluster analysis did not detect a possible relation between the occurrence habitats and the genetic identity, nor found a correlation between the geographical distance and genetic identity ($r_m = 0.063$). The progenies analysis showed that the species is allogamous ($\hat{t}_m = 0.996$) in the populations of the Riparian Forest and 0.974 in the population of the Gallery Forest. The reproductive system indicated that for the populations sampled in the Riparian Forest, most of the progenies were originated by biparental crossings ($\hat{P}_{IC} = 54,8\%$). As for the population sampled

in the Gallery Forest, most of its progenies were originated by random crossings ($\hat{P}_{MI} = 70.3\%$). Thus, independent of the habitat, it is necessary the conservation of natural populations of *C. brasiliense*, since this species demonstrates certain fragility to the factors that threaten its genetic variability, such as the degradation of its populations and lack of connection among them.

1 INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica Estacional está presente em grande parte do estado de Minas Gerais e apresenta grande heterogeneidade florística, que se distribui em gradientes que vão desde as Matas Ciliares até as Matas Mesófilas Semidecíduais, formando mosaicos de diferentes tipos vegetacionais (Veloso, Rangel-Filho & Lima, 1991).

Consideradas um dos principais gradientes da Floresta Atlântica Estacional, as formações ciliares, por possuírem características peculiares, principalmente alta diversidade de espécies, tornaram-se alvos de perturbações naturais ou antrópicas. Assim, a manutenção da sua vegetação natural tornou-se, sem dúvida, uma das principais metas atuais, já que a recuperação e a conservação desses ecossistemas passam por um amplo processo de valoração, como a manutenção da qualidade e produção de água, controle de erosão, conservação da fauna e flora e utilização de produtos não madeireiros.

Todo ambiente ciliar possui características bem distintas, o que garante a adaptação de determinadas espécies vegetais. A vegetação ciliar é primordial para que estes ambientes se mantenham em equilíbrio dinâmico, contribuindo para o fechamento do ciclo biológico de muitas espécies. No entanto, ao entender as complexas relações destas espécies vegetais no ambiente, torna-se mais fácil compreender a distribuição e a adaptação das populações de plantas nestas áreas.

As áreas ciliares contribuem positivamente para a conservação da biodiversidade, seja pela sua atuação como corredor ecológico ou como banco de material genético, garantindo a conservação e a perpetuação de muitas espécies. A ocorrência de fluxo gênico que permita a manutenção da diversidade genética nestas populações mostra a efetividade destes ambientes como corredores, demonstrando a sua importância para a conservação da variabilidade

genética das espécies da flora e fauna que, devido à fragmentação, têm suas populações cada vez mais reduzidas e isoladas.

As áreas ciliares e as florestas paludosas sofrem conseqüências dos distúrbios antrópicos. Sendo habitats distintos, o conhecimento dos níveis de diversidade genética de suas populações naturais permitirá uma melhor compreensão das características ecológicas e genéticas. Portanto, estudos ecológicos e genéticos de populações naturais de plantas, nestes habitats, são de grande valia para o estabelecimento de práticas conservacionistas sustentáveis, contribuindo para a aquisição de subsídios que garantam a conservação *in situ* e orientem a seleção de populações para a coleta de sementes, para a recuperação de áreas e implantação de matas ciliares.

A conservação de áreas protegidas, como as ciliares, requer o conhecimento da distribuição da variabilidade, da abundância de espécies e da estrutura genética de suas populações naturais de plantas. Assim, técnicas moleculares são usadas para acessar esta variabilidade, apontando direções importantes na orientação e na monitoração destes ambientes, mediante a junção de conceitos de ecologia e genética populacional (Kageyama, 1998). Dentre estas, os marcadores genéticos são utilizados para acessar a variabilidade genética de populações naturais de plantas, gerando informações necessárias e fundamentais à implantação de um plano de conservação.

Calophyllum brasiliense Camb. é uma espécie especialista em habitat, ocorrendo em solos com alta saturação hídrica. Assim, a caracterização de sua estrutura genética pode demonstrar os possíveis efeitos destas alterações nas populações naturais. Dentre esses efeitos, os principais são a redução do tamanho populacional e seu isolamento, tendo como conseqüências a deriva genética e a endogamia. Como as populações de espécies arbóreas são estruturadas, na sua maioria, de forma hierárquica, sua variabilidade genética encontra-se organizada (entre regiões, entre populações, dentro de regiões, entre

famílias dentro de populações e entre plantas dentro de famílias). Assim, estudos de estrutura genética em populações de espécies arbóreas especialistas em hábitat, além de permitirem e estabelecerem estratégias para conservação *in situ* e *ex situ*, devido a sua plasticidade ecológica, também podem servir de parâmetro para a manutenção da ecologia e genética populacional de espécies que compartilham os mesmos agentes (polinização e dispersão) e recursos essenciais ao desenvolvimento do seu ciclo evolutivo.

Dessa forma, visando caracterizar os padrões da variabilidade genética inter e intrapopulacional de *Calophyllum brasiliense* Camb., o objetivo deste trabalho foi acessar e compreender esta variabilidade em três habitats de ocorrência da espécie (Mata Ciliar, Floresta Paludosa e Mata de Galeria), buscando-se, em cada local:

- quantificar a variabilidade genética intra e interpopulacional;
- caracterizar a estrutura genética das populações;
- determinar o fluxo gênico inter e intrapopulacional;
- estudar a distribuição espacial dos genótipos;
- estimar o tamanho efetivo;
- determinar o sistema reprodutivo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ambientes ciliares

A discussão que envolve a distinção entre as florestas secas tropicais e as úmidas tem sido de grande relevância (Gentry, 1988; Murphy & Lugo, 1986). A razão para este fato é a grande variação da duração da estação seca em áreas próximas, fazendo com que diferentes tipos de vegetação se interpenetrem através de extensas áreas (Richards, 1996; Sarmiento, 1972). Como exemplo desta complexidade existente nas florestas tropicais, a Floresta Atlântica, devido a sua extensão, ocorre em áreas de elevada heterogeneidade ambiental. Isso, por sua vez, lhe permite compor diferentes tipos vegetacionais (Siqueira et al., 2001; Veloso et al., 1991).

Com relação à distribuição da Floresta Atlântica brasileira nas regiões Sul e Sudeste, fisionomicamente esta é composta de dois principais tipos: a Floresta Costeira ou Floresta Atlântica Úmida e a Floresta Atlântica Sazonal ou Floresta Atlântica Estacional (Morellato & Haddad, 2000). As florestas estacionais ocorrem em manchas, desde o sul do rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, apresentando uma maior concentração na região sudeste (IBGE, 1988).

Veloso et al. (1991) classificam as florestas estacionais de acordo com a decidualidade das espécies que nelas ocorrem. Segundo estes autores, quando mais de 50% dos indivíduos do dossel de uma floresta perdem as folhas, esta seria classificada como Floresta Estacional Decídua e, entre 30% e 50%, como Floresta Estacional Semidecídua. Em grande parte do Brasil central, essas florestas partem, quase sempre, do gradiente: Mata Ciliar, Mata Mesófila Semidecídua, Cerrado (sentido amplo), diferindo da primeira em função da maior decidualidade, que pode variar de 10% a 90%, no auge da estação seca e do

cerrado, pelos aspectos fisionômicos e pelo menor escleromorfismo foliar (Araújo & Haridasan, 1997).

As florestas ciliares, também chamadas de mata de galeria ou ripárias, desempenham funções importantes, como a manutenção da qualidade e quantidade da água. Devido ao seu efeito tamponador, contribuem para a estabilidade do solo de áreas marginais, controlando processos erosivos; regulam os regimes hídricos, devido a sua influência no lençol freático; sustentam a fauna aquática e silvestre, mantendo a interação entre solo-água-planta-fauna (Lima, 1989; Pedralli & Teixeira, 1997; Silva et al., 1992); funcionam como corredores ecológicos interligando diferentes unidades fitogeográficas e viabilizam o fluxo gênico entre populações fragmentadas de plantas (Kageyama & Gandara, 2000).

Os termos Mata de Galeria e Mata Ciliar são utilizados com base na largura da faixa de floresta e fisionomia da vegetação de entorno. Porém, na maioria das vezes, ambos são diferenciados pela composição florística e deciduidade (Ribeiro & Walter, 1998).

O termo Mata de Galeria é usado para a vegetação que corresponde a uma formação mesofítica, com algum grau de caducifolia, que se encontra em um ou ambos os lados do curso d'água e cuja vegetação original da região não seja uma floresta contínua (cerrado, campinas, caatinga, campos, etc.) (Ribeiro & Walter, 1998). De acordo com Kawaguici (2001), este termo é designado para a vegetação florestal ocorrendo em cursos d'água de pequena largura, onde as copas das árvores das margens se tocam, formando uma galeria, permitindo um ambiente característico para a população de plantas que ali ocorrem.

A vegetação estreita, limitada à beira dos diques marginais dos rios, em geral, mais estreita que a floresta de galeria e com certa deciduidade, é designada Mata Ciliar (Ribeiro & Walter, 1998).

As Florestas Paludosas ou Florestas de Brejo recebem este nome por estarem sobre solos permanentemente encharcados, com fluxo constante de água superficial dentro de pequenos canais com certa orientação de drenagem, mesmo que pouco definida (Ivanauskas et al., 1997; Torres et al., 1992 e 1994).

Estas fisionomias receberam diferentes designações na literatura. Rodrigues (2000) classifica estes tipos vegetacionais como Floresta Estacional Semidecidual Ribeirinha com influência fluvial permanente. Leitão Filho (1982) as classificou como Floresta Latifoliada Higrófila com inundação quase permanente; Bertoni e Martins (1987), como Floresta de Várzea; Ivanauskas et al. (1997); Torres et al. (1994) e Paschoal & Cavassan (1999), como Mata de Brejo e Toniato et al. (1998) como Floresta Higrófila.

A composição florística entre remanescentes de formações ciliares mostra que essas áreas são muito diversas (Durigan & Leitão Filho, 1995; Felfili & Silva Júnior, 1992; Felfili et al., 1994; Meguro et al., 1996; Oliveira Filho et al., 1990; Silva Júnior et al., 1998). Vários são os fatores que contribuem para a promoção e a manutenção desta heterogeneidade, como o tamanho da faixa ciliar florestal (Metzger et al., 1997), o estado de conservação ou de degradação desses remanescentes (Durigan & Leitão Filho, 1995, Toniato et al., 1998), o tipo da vegetação e a origem dessa formação florestal ciliar (Oliveira Filho et al., 1994; Oliveira Filho & Ratter, 1995), a matriz vegetacional em que essa formação está inserida (Ivanauskas et al., 1997), o acaso na chegada de disseminulas no processo de estabelecimento dessas formações florestais (Meguro et al., 1996), a heterogeneidade vegetacional como resultado da heterogeneidade espacial das características físicas do ambiente ciliar e outros fatores atuantes na seletividade das espécies (Barnes et al., 1997; Felfili, 1995 e 1998; Hall & Harcome, 1998; Meguro et al., 1996; Rodrigues, 1992; Scarano et al., 1997).

Sem dúvida, conhecer a ocorrência e a distribuição das espécies ocorrentes nestes ambientes florestais garante a possibilidade de se gerar estratégias de conservação para estas áreas, como também permite que sejam traçadas metas para a recuperação, a recomposição e a restauração de suas populações.

Para a conservação de populações naturais são encontradas duas alternativas, a conservação *in situ* e a *ex situ*. Destas, a conservação *in situ* é a mais adequada, por manter a espécie no seu ambiente natural (Dias & Kageyama, 1991). Assim, o uso de marcadores genéticos como ferramenta para se caracterizar os padrões da variabilidade genética nestas áreas a serem conservadas é de grande valia, uma vez que estes apresentam a vantagem de possibilitar que esta análise seja realizada em um menor tempo e custo, quando comparados com estudos realizados a partir de caracteres morfológicos e fisiológicos (Hamrick, 1983).

2.2 A espécie de estudo

Calophyllum brasiliense Camb., ou guanandi, como é conhecido nas regiões de ocorrência natural, de acordo com o sistema de classificação de Cronquist, obedece à seguinte hierarquia: divisão [Magnoliophyta (Angiospermae)], classe [Classe: Magnoliopsida (Dicotyledonae)], ordem (Theales) e família [Clusiaceae (Guttiferae)] (Carvalho, 1994).

Segundo a etimologia, *Calophyllum* remete a “folha bonita” e *brasiliense* a “do Brasil”. Seu nome comum, guanandi, é proveniente da língua tupi “gwanã'di”, e significa “o que é grudento” (Ferreira, 1975).

C. brasiliense Camb. é uma espécie de ampla plasticidade ecológica em ambientes ciliares, ocorrendo desde a latitude de 18°N (Porto Rico) a 28°10'S (Brasil, em Santa Catarina). No Brasil, está presente em todas as bacias brasileiras, abrangendo quase todas as regiões fitoecológicas do nosso país,

como na Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica), nas formações Aluviais, das Terras Baixas e Baixo-Montana (Guimarães et al., 1988), onde é bastante comum e Floresta Ombrófila Densa (Floresta Amazônica), onde é freqüente nas Terras baixas, sobretudo nos igapós; na Floresta Estacional Semidecidual, nas formações Aluviais (Carvalho et al., 1996; Velozo et al., 1991) e Montana. Também é encontrada no Cerradão, em São Paulo (Durigan et al., 1997); nas matas de galeria do Brasil Central (Silva Junior et al., 1998), nos campos rupestres ou de altitude; no Pantanal Mato-grossense (Pasa et al., 2000; Pott & Pott, 1994) e na Restinga (De Grande, 1981; Henriques et al., 1986).

Além de sua plasticidade ecológica, *C. brasiliense* tem grande representatividade na utilização como alimentação animal (a forragem desta espécie apresenta 7% de proteína bruta e de 6% a 12% de tanino) (Leme et al., 1994), na apicultura (as flores são melíferas) e com aplicação medicinal (a casca e o látex são usados na medicina popular e na veterinária, o chá de folhas e a infusão da casca são muito empregados no tratamento do diabetes) (Figueiredo, 1979). O látex, ou a resina do tronco (exsudado odorífero), chamado de bálsamo-de-landim, é vesicante e energizante, sendo também indicado como anti-reumático e, mesmo, no tratamento de tumores e úlceras crônicas (Pasa et al., 2000), como anti-séptico, em decocção para uso externo (Brandão, 1991). Chás e banhos preparados com a casca do caule são utilizados como anti-inflamatórios e, mesmo, no tratamento de varizes e hemorróidas (Pasa et al., 2000).

Esta espécie é utilizada em reflorestamentos, para recuperação ambiental (os frutos do guanandi são muito procurados pela fauna, especialmente tucanos, veados e morcegos, seus principais dispersores), além de ser disseminada por hidrocoria (levados pelas águas pluviais e fluviais)]. É indicada, principalmente, para a reposição de Mata Ciliar em locais sujeitos a inundações periódicas de média a longa duração, bem como em solo encharcado por períodos que variam

entre três a quatro meses anualmente (Marques, 1994). Também é indicada para plantio em áreas com o solo permanentemente encharcado (Torres et al., 1992).

Quanto aos seus aspectos ecológicos, dentro do grupo sucessional, esta espécie é classificada como secundária/intermediária tardia (Durigan & Nogueira, 1990; Vilela et al., 1993) ou clímax tolerante à sombra (Rondon Neto et al., 1999). O guanandi apresenta regeneração natural abundante na sombra, mostrando ser uma espécie que está em expansão em matas que não sofrem pressão antrópica (Kawaguici & Schiavini, 1995).

A capacidade das sementes desta espécie de manter a viabilidade, embora submersas e das plantas de crescerem normalmente em solo encharcado, mostra que, em *C. brasiliense*, a saturação hídrica do solo não interfere de forma negativa em seu ciclo de vida (Marques & Joly, 2000). Estas características, associadas à diversidade de mecanismos de dispersão, justificam a ampla distribuição da espécie nas florestas que ocorrem em áreas sujeitas a inundações. Porém, não se propaga vegetativamente (Scarano et al., 1997)

As plantas do *C. brasiliense* caracterizam-se por apresentar flores masculinas e hermafroditas, com características similares no tamanho e na morfologia, exceto na ausência de pistilo e cada árvore apresenta apenas um tipo de flor, ou masculina ou hermafrodita (Fischer & Santos, 2001). Como vetores de polinização, há as abelhas e os pequenos insetos, e sua época de floração é variável, em virtude de sua ampla área de ocorrência, apesar de sincronismos no florescimento terem sido detectados entre árvores de mesmo hábitat (Fischer & Santos, 2001).

O processo reprodutivo inicia-se aos três anos de idade em plantio em solo fértil e bem drenado, e, em condições naturais, aos dez anos de idade (Carvalho, 1994). A dispersão das sementes e frutos do *C. brasiliense* é realizada de diferentes formas, sendo predominante a dispersão zoocórica. A quiropterocoria (Galetti, 1995) é uma forma importante de dispersão de suas

sementes, principalmente por morcegos frugívoros (Chiroptera-Phyllostomatidae), como *Platyrrhinus lineatus* e *Artibeus lituratus* (Marques & Fischer, 1996). Também são dispersas pelo macaco bugio (*Alouatta fusca*) (Galetti, 1992) e por aves (ornitocórica), como a gralha-azul (*Cyanocorax caeruleus* - Corvidae), no sul do Brasil. Os morcegos alimentam-se do epi e mesocarpo dos frutos e, depois, regurgitam as sementes com restos do endocarpo.

A hidrocória também é comum, devido a sua ocorrência freqüente junto aos cursos de água. Contudo, suas sementes não germinam quando submersas, mas mantêm-se viáveis e flutuam (Lobo et al., 1995), sendo a dispersão aquática a longa distância dificultada pela estagnação da água de inundação (Ribeiro et al., 1995). Autocoria também é uma síndrome de dispersão do guanandi, principalmente barocórica (por gravidade), na qual os frutos caem diretamente no solo. Geralmente, seus frutos com sementes ficam disponíveis nas árvores-mãe durante cerca de dez meses e, em grande quantidade, os frutos liberados pelas árvores-mães formam um banco de sementes no solo (Kawaguici & Schiavini, 1995). Porém, o tipo de hábitat de ocorrência pode influenciar a germinação das sementes e, possivelmente, o estabelecimento das árvores adultas e jovens (Fischer & Santos, 2001). As sementes de *C. brasiliense* germinam logo após a dispersão, desde que ocorra sua predação, por alguns vertebrados e fungos (Fischer & Santos, 2001). Caracterizam-se, por serem potencialmente dormentes e podem permanecer no solo por um longo período (Scarano et al., 1997).

C. brasiliense apresenta um padrão de sobrevivência semelhante ao descrito para outras espécies (Clark & Clark, 1987; De Steven, 1994). Sua mortalidade pode variar de 50,7%, nas plântulas, para 6,4%, nas árvores não reprodutivas, a nenhuma mortalidade nos adultos (Fischer & Santos, 2001).

2.3 Isoenzimas

Isoenzimas são diferentes formas moleculares de uma mesma enzima, apresentando função idêntica ou similar, presente num mesmo indivíduo (Markert & Moller, 1959). A principal aplicação das isoenzimas é nos estudos de diversidade genética e evolução, o que tem sido extremamente importante para as investigações sobre variação intra-específica, genética de populações e evolução, já realizadas em diversas espécies.

A premissa básica adotada ao se utilizarem dados isoenzimáticos é que diferenças na mobilidade de isoenzimas em um campo elétrico são resultantes de diferenças nas seqüências de DNA que codificam tais enzimas. Assim, se os padrões de bandas de dois indivíduos diferem, assume-se que estas diferenças possuam base genética e sejam herdáveis (Murphy et al., 1990). O controle genético ocorre por meio de vários genes, que podem ser alelos de um mesmo loco ou estar situados em diferentes locos. A expressão das isoenzimas é codominante, isto é, em um indivíduo diplóide, ambos os alelos de um loco são expressos e visualizados (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A propriedade mais expressiva das isoenzimas é a base genética simples envolvida na expressão destas enzimas, o que torna a identificação de polimorfismos rápida e simples (Soltis & Soltis, 1990). Esta técnica tem proporcionado dados úteis na abordagem de questões importantes em sistemática e evolução de plantas (Crawford, 1989).

As isoenzimas contribuíram efetivamente para o conhecimento da distribuição da variabilidade genética inter e intrapopulacional de espécies economicamente e ecologicamente importantes das florestas tropicais (Gandara, 1996; Giudice Neto, 1999; Jaeger, 2004; Maltez, 1997; Melo Júnior et al., 2004; Moraes, 1997; Moura, 2005; Oliveira et al., 2002; Póvoa, 2002; Reis, 1996; Sebbenn, 1997 e 2001; Souza, 1997 e Vieira, 2005). Com seus resultados, metas

visando à conservação e à manutenção de suas populações naturais foram traçadas, uma vez que estes estudos refletem nitidamente a fragilidade das espécies às alterações ambientais que, com o tempo, levam a ocorrência de deriva genética e endogamia.

2.4 Variabilidade genética

A implantação de um programa de conservação para qualquer espécie requer o conhecimento de como a variabilidade genética está distribuída nas populações naturais. Este entendimento é fundamental para o estabelecimento de metas a serem estabelecidas, pois, além de procurar garantir e preservar o potencial evolutivo das espécies, estas devem também manter os limites da variabilidade genética inalterados ao longo do tempo.

Segundo Frankel et al. (1996), conhecer os padrões de distribuição da variabilidade genética dentro e entre populações naturais garante o estabelecimento de práticas conservacionistas efetivas e eficientes. Kageyama & Gandara (1993) apontam que esse entendimento é a base para a aplicação de técnicas de manejo nas florestas tropicais, além de contribuir para o estabelecimento da conservação *in situ* de populações naturais.

Os marcadores genéticos são, sem dúvida, a principal ferramenta para descrever os padrões da variabilidade genética de uma população natural e, com o seu uso, é possível avaliar como esta variabilidade encontra-se distribuída dentro e entre as populações (Sebbenn, 2001; Telles et al., 2003). Alguns parâmetros, como o número de alelos por loco, a porcentagem de locos polimórficos, a heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg e o índice de fixação, são usados na caracterização da variabilidade genética intrapopulacional (Botrel & Carvalho, 2004; Gusson, 2005; Pinto & Carvalho 2004; Van Rossum & Prentice, 2004).

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações está relacionada com alguns fatores intrínsecos à espécie, como o mecanismo de dispersão de pólen e sementes, o modo de reprodução, o sistema de cruzamento, bem como alguns fatores ambientais que possam influenciar ou direcionar de forma agregada essa distribuição (Kevin et al., 2004; Luna et al., 2005; Marquardt & Epperson, 2004).

2.5 Estrutura genética

Na natureza, várias forças podem promover tanto a diferenciação como a homogeneização genética em uma população natural de plantas. Alguns fatores ecológicos e evolutivos, como a seleção natural, a deriva genética e a mutação, podem influenciar a distribuição da variabilidade genética dentro e entre as populações, trazendo inferências significativas na estrutura genética (Hamrick, 1989).

A distribuição da variabilidade genética está associada à forma como os genótipos e alelos estão distribuídos no tempo e espaço, seja entre populações distintas geograficamente, ou dentro de um grupo local, ou mesmo em grupos de progênies (Loveless & Hamrick, 1984). Dessa forma, o comportamento da distribuição da variabilidade genética caracteriza a sua estrutura genética, a qual corresponde à forma de como a variabilidade genética é distribuída (Brown, 1978).

Ecologicamente, a estrutura genética populacional é afetada pela densidade populacional, natureza das relações entre indivíduos e o ambiente, e interações entre indivíduos e populações locais. Geneticamente, é caracterizada pela variabilidade morfológica e quantitativa existente entre os indivíduos, pelo sistema reprodutivo, pelos padrões de fluxo gênico e por estratégias adaptativas aos ambientes locais (Martins, 1987).

Os estudos de estrutura genética são fundamentados no teorema de Hardy-Weinberg, que é a base da teoria genética da evolução. Este assume que a frequência dos alelos não muda de uma geração para outra e considera que a única mudança na composição genética da população é a redistribuição dos genótipos em frequências que serão mantidas em todas as gerações subsequentes. Tal fundamentação ainda propõe que as diferenças encontradas entre a população “ideal” (em equilíbrio) e a população real (em estudo) seriam os ingredientes da evolução (Futuyama, 1992). Entretanto, nem sempre estas frequências são mantidas inalteradas de uma geração à outra. Reis (1996) sugere que forças microevolutivas são as principais fontes de desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg, sugerindo que a formação da estrutura decorre de fatores como sistema reprodutivo, níveis de endogamia, seleção natural, fluxo gênico e deriva genética entre e dentro das populações naturais.

A estrutura genética de populações pode ser avaliada utilizando-se quatro metodologias distintas: coeficiente de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992; Weir, 1996), que fornece a distribuição da variabilidade genética em diversos níveis hierárquicos; as estimativas da diversidade genética de Nei (1973, 1978), que fornece a proporção da variabilidade genética contida entre e dentro das populações (Gonzales & Hamrick, 2005; Lee et al., 2002); estatísticas F de Wright (Wright, 1965), que fornecem os níveis médios dos índices da fixação alélica para o total de populações (F_{IT}), dentro da população (F_{IS}), e a divergência genética entre populações (F_{ST}) (Morales et al., 1999; Yeeh et al., 1996) e a distância genética de Gregorius (\hat{D}_G) (Gregorius, 1974), na qual os erros são calculados por permutações.

2.6 Fluxo gênico

A seleção natural, que favorece a adaptação em gradientes ambientais ou em determinados locais distintos de vários habitats, pode produzir diferenciação genética entre as populações. Dessa forma, fatores como o tamanho da população e a endogamia (cruzamento entre indivíduos aparentados) reduzem a variação genética dentro das populações pela deriva genética. A ocorrência destes eventos contribui para a heterogeneidade genética entre populações. Em contraste com estas forças, a troca de genes entre populações, ou fluxo gênico, é capaz de homogeneizar a variação genética espacial (Hamrick & Nason, 1996). Segundo Slatkin (1985), o termo “fluxo gênico” é dado a todos os mecanismos que resultam em movimento de alelos de uma população para outra e determina a extensão para qual as mudanças genéticas em populações locais são independentes.

As plantas dispersam seus genes durante dois estágios do seu ciclo de vida: antes da fertilização (pólen) e após a fertilização e desenvolvimento do embrião (sementes). Assim, o fluxo gênico permite o movimento eficiente de genes entre populações e subpopulações, mediante a fertilização de um óvulo por um grão de pólen migrante e o subsequente estabelecimento desta plântula (Hamrick & Nason, 1996). O reconhecimento desses estágios de dispersão gênica é essencial para se compreender a distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações de plantas (Levin, 1981; Whitlock & McCauley, 1990).

Uma vez que a dispersão de pólen e a de sementes são eventos independentes, espécies de plantas com dispersão de pólen efetiva de longo alcance, porém, com dispersão de semente localizada, podem ter menor variação genética entre populações geograficamente separadas, o que desencadeia a ocorrência de grupos de indivíduos aparentados (Hamrick & Nason, 1996).

A dispersão de sementes constitui o fluxo gênico quando sementes de migrantes se estabelecem em populações pré-existentes. Quando a dispersão de sementes resulta na formação de uma nova população, ela pode ou não contribuir para a homogeneização da estrutura genética espacial, dependendo do grau de correlação genética entre as mesmas e a população já existente (Hamrick & Nason 1996; Whitlock & McCauley, 1990).

De acordo com Hamrick & Nason (1996), dois métodos gerais são usados para estimar fluxo gênico: o método indireto, no qual os níveis de fluxo gênico são estimados com base na distribuição da diversidade genética entre populações e o método direto, em que o fluxo gênico é estimado com base em observações do movimento de vetores de pólen e de sementes, pólen e sementes marcadas ou a identificação de alelos ou genótipos migrantes.

A disponibilidade de marcadores genéticos codominantes e neutros, associada ao desenvolvimento de procedimentos estatísticos avançados, propicia o método mais apurado de estimar diretamente o fluxo gênico em populações naturais de plantas. O método mais simples é localizar o indivíduo ou grupo de indivíduos com alelo único ou exclusivo dentro de uma população natural ou experimental. A observação deste alelo dentro de progênies, dentro da população, permite que padrões de dispersão de pólen e sementes sejam quantificados. Também é relativamente fácil genotipar indivíduos jovens e coletá-los, bem como genotipar sementes de espécies arbóreas (Hamrick & Nason, 1996).

De acordo com Futuyama (1992), diferenças na estrutura da população são correspondentes aos diversos modelos de fluxo gênico, dentre os quais destacam-se: a) modelo de “continente-ilha”, que se baseia no movimento unidirecional de uma fonte efetivamente grande ou “continental” para uma menor isolada, que aplica-se a populações de plantas que apresentam dispersão a longas distâncias (Barret & Husband, 1989); b) modelo de “ilhas”, no qual a

migração multidirecional se dá entre subpopulações, isto é, ocorre ao acaso entre um grupo de pequenas populações; c) modelo de “alpondras” (“*stepping-stones*”), em que a migração se dá somente entre populações vizinhas e d) modelo de “isolamento por distância”, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre vizinhos, em uma população contínua.

Este mesmo autor considera que o fluxo gênico ocorre, na maioria dos modelos, a uma taxa aproximadamente constante em cada geração. Portanto, em qualquer modelo de estrutura populacional, o fluxo gênico tem o efeito de homogeneizar a composição genética, isto é, se o único fator operante for o fluxo gênico, todas as populações convergirão para a mesma frequência alélica.

Vários estudos de genética populacional têm estimado o fluxo gênico pelo modelo de ilhas de Wright (1951) (Jaeger, 2004; Oliveira, 2000; Pinto et al., 2004; Póvoa, 2002; Reis, 1996; Sebbenn, 1997; Vieira, 2005). Neste, o número efetivo de migrantes é estimado a partir da estatística F para um conjunto n de populações, assumindo equilíbrio entre migração e deriva genética. O trabalho de Wright (1951) demonstra que o número de migrantes Nm é igual a 1 por geração, não haverá diferenciação genética significativa entre populações, ou seja, os efeitos da migração são suficientes para contrapor os efeitos da deriva. Porém, Hartl & Clark (1997) consideram que, para ocorrer a homogeneização dos alelos entre populações, é necessário um número de migrantes acima de 4 por geração, para, assim, estas populações funcionarem como populações panmíticas.

2.7 Distribuição espacial

O estudo dos padrões espaciais dos indivíduos em uma população natural de plantas é uma das ferramentas mais utilizadas para a compreensão do comportamento dos processos evolutivos e ecológicos (Brown, 1979). Tal conhecimento fornece informações que intensificam ainda mais as técnicas de

manejo e conservação e também auxiliam nos processos de amostragem, uma vez que consideram as interações existentes entre os indivíduos e o ambiente físico e biológico (Anjos, 1998).

As comunidades de plantas exibem uma ampla variação na sua estrutura espacial e mostram heterogeneidade em muitas escalas. As causas e conseqüências desta estrutura física são observadas em toda a extensão das comunidades de plantas e animais (Lawton, 1983 citado por Crawley, 1986).

O estudo da distribuição espacial das espécies representa o primeiro passo para o entendimento das florestas tropicais e seus componentes. A estrutura de uma população é o resultado da história de vida das espécies ou de eventos do passado, os quais ainda exibem sua presença na estrutura da população recente (Poorter & Bongers, 1993).

O padrão espacial de uma espécie caracteriza a forma como os indivíduos estão distribuídos na área, sendo uma das características da estrutura populacional. Vários autores discutem diferentes causas que podem determinar o padrão espacial de distribuição dos indivíduos das espécies arbóreas na floresta. Segundo Greig-Smith (1983) citado por Souza (2002), fatores ambientais e ou bióticos podem influenciar diretamente o padrão espacial dos indivíduos de uma espécie. O padrão depende também da densidade das sementes dispersadas, da capacidade de sobrevivência das plântulas, da influência de fatores de mortalidade e das interações intra e interespecíficas (Hubbell, 1980; Jasen, 1970; Souza, 2002).

A caracterização da estrutura espacial pode ser realizada utilizando-se o índice I de Moran, que quantifica a similaridade genética entre pares de indivíduos espacialmente adjacentes, concernente à amostra da população como um todo. Este índice assume valores que podem variar de +1 (autocorrelação completa positiva, isto é, indivíduos pareados têm valores idênticos) a -1 (autocorrelação completa negativa) (Dewey & Heywood, 1988; Gandara 1996).

Vários trabalhos têm usado o coeficiente I de Moran na avaliação de autocorrelação espacial em caracteres genéticos (Kevin et al., 2004; Luna et al., 2005; Ng et al., 2004; Setsuko et al., 2004).

Outro coeficiente também utilizado para a análise da estrutura espacial dos genótipos é o coeficiente de parentesco ou coeficiente de coancestralidade ($\hat{\theta}_{xy}$) (Erickson & Hamrick, 2003; Loiselle et al., 1995; Myamoto et al., 2002; Ng et al., 2004; Ruggiero et al., 2005), que baseia-se na probabilidade de se amostrarem aleatoriamente dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência (Cockerham, 1969; Ritland, 1996).

A estruturação genética espacial tem sido detectada em várias espécies arbóreas tropicais, merecendo destaque trabalhos como os de Kageyama et al. (2003a), com *Ocotea odorífera*; Moraes et al. (2004), com *Cryptocarya moschata* Nees; Silva et al. (2004), com *Terminalia argentea* Mart; Moura (2005), com *Eremanthus erythropappus* MacLeich; Vieira (2005), com *Protium spruceanum* Benth.

2.8 Tamanho efetivo

Ao se proporem metas para um programa de conservação, devem-se levar em conta algumas informações que são cruciais para a sua efetividade. O tamanho efetivo de populações ou \hat{N}_e é uma importante medida, pois representa o tamanho de uma população que apresenta uma redução na variabilidade genética pela endogamia ou deriva genética, tendo como ponto de referência uma população panmítica de tamanho finito. Essa medida refere-se ao grau de representatividade genética presente em uma amostra de plantas, sementes ou propágulos (Sebbenn, 2001).

Segundo Wright (1931), o tamanho efetivo da população corresponde ao número de indivíduos que participam na reprodução da próxima geração. Assim,

uma redução no tamanho populacional representaria uma diminuição no número de indivíduos reprodutivos.

O tamanho de uma população ou vizinhança que apresenta a mesma redução na variabilidade genética, seja por endogamia ou por deriva de uma população de referência, panmítica, é representado como tamanho efetivo (Crow & Kimura, 1970; Lande, 1988).

O tamanho efetivo de população influencia diretamente na manutenção da estrutura genética de uma população ao longo das gerações. Nesse sentido, o \hat{N}_e é de grande importância para delimitar a área mínima viável para conservação *in situ* de uma espécie (Sebbenn, 1997). Além disso, o conhecimento do \hat{N}_e pode contemplar também os planos de conservação *ex situ*, pois a coleta de sementes para coleções de germoplasma pode ser feita de maneira a se capturar o máximo de representatividade genética, ou seja, o máximo \hat{N}_e e, a partir desse parâmetro, propiciar a manutenção das populações por longo tempo nos bancos de germoplasma (Sebbenn, 2001).

Para a conservação genética, os valores de tamanho efetivo são determinados considerando-se a prevenção de depressão endogâmica e a manutenção do potencial evolutivo da espécie. Assim, na literatura, alguns números de tamanho efetivo foram propostos, a fim de se garantir a conservação de uma espécie. Nunney & Campbell (1993) sugerem um tamanho efetivo de 100 a 150 para a conservação em curto prazo e de 1.000 a 1.500 para a conservação em longo prazo. Frankel & Soulé (1981) sugerem dois números de referência para o tamanho efetivo. Para conter os efeitos da endogamia, um \hat{N}_e de 50 seria o suficiente, entretanto, considerando 10 gerações. Para conter a perda de variação genética, um \hat{N}_e de 500 seria o suficiente, visto que este

autores consideram que a estocasticidade genética pode estar implicada na perda, a longo prazo, de flexibilidade evolutiva.

2.9 Sistema reprodutivo

O sistema de reprodução é a forma como uma espécie deixa seus descendentes e este determina também o modo de transmissão de genes entre gerações, já que a reprodução pode ocorrer por cruzamentos aleatórios, cruzamentos biparentais, autofecundações, apomixia e suas combinações (Souza et al., 2003).

Segundo Brown (1979), as espécies de plantas se enquadram em cinco classes de cruzamento, predominantemente autógama ou alógama, misto, autofecundação e exocruzamento, parcialmente apomítica e parcialmente autógama. Dessa forma, a taxa de fecundação cruzada (\hat{t}) pode variar consideravelmente entre plantas, locais e épocas, e isso também faz com que a variedade de sistemas de cruzamentos seja bastante ampla.

As estimativas das taxas de cruzamento podem ser obtidas pelo método dos momentos, obtendo-se a taxa de cruzamento aparente (t_a) a partir do coeficiente de endogamia (f) (Vencovsky, 1992; Weir, 1990) e pela estimativa de verossimilhança (Ritland & Jain, 1981; Ritland & El Kassaby, 1985).

As espécies arbóreas tropicais apresentam alta proporção de locos polimórficos e maior nível de diversidade genética dentro de populações que entre populações, e o sistema de cruzamento é misto (Hamrick & Godt, 1990), com predominância de alogamia (Ward et al., 2005). O sistema misto de reprodução, por sua vez, prediz variabilidade genética intermediária entre espécies de autofecundação e alógamas, sendo o potencial de diferenciação entre populações variáveis, em função do balanço dessas duas formas de reprodução (Loveless & Hamrick, 1984).

O sistema reprodutivo de uma espécie pode ser afetado por vários fatores. Dentre eles, destacam-se: o tamanho e a densidade populacional (Murawski & Hamrick, 1992), a sincronia no florescimento e os padrões fenológicos (Hall et al., 1996), o grau de estruturação genética nas populações (Franceschinelli & Bawa, 2000) e a presença de mecanismos de auto-incompatibilidade (Murawski & Hamrick, 1992).

Para Hamrick (1983), a forma de reprodução determina, em parte, a estrutura genética espacial e temporal das populações. Segundo Souza et al. (2003), seu conhecimento é de fundamental importância em programas de melhoramento e conservação genética, porque permite delinear estratégias que otimizem a amostragem da variabilidade e a adoção de modelos genético-estatísticos adequados para a estimativa de parâmetros genéticos.

Sem dúvida, o estudo detalhado do sistema reprodutivo das espécies arbóreas tropicais pode fornecer informações importantes sobre os processos microevolutivos e as melhores formas para a conservação e manejo dessas espécies (Bawa & O'Malley, 1987). Estudos do sistema reprodutivo de várias espécies arbóreas tropicais têm utilizado os marcadores bioquímicos e moleculares. Estes, combinados com programas genético-estatísticos, possibilitam estimar a taxa e o modo de cruzamento das espécies em estudo (Kageyama et al., 2003; Moura, 2005; Póvoa, 2002; Sebbenn et al., 2000; Seoane et al., 2001; Souza et al., 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização das áreas de estudo

Devido à preferência do *C. brasiliense* por certos ambientes, três habitats da espécie, Mata Ciliar, Floresta Paludosa e Mata de Galeria, foram escolhidos para caracterizar, quantificar e avaliar a distribuição da sua variabilidade genética (Figura 1). Em cada habitat foram coletadas amostras de material biológico de duas populações (Tabela 1).

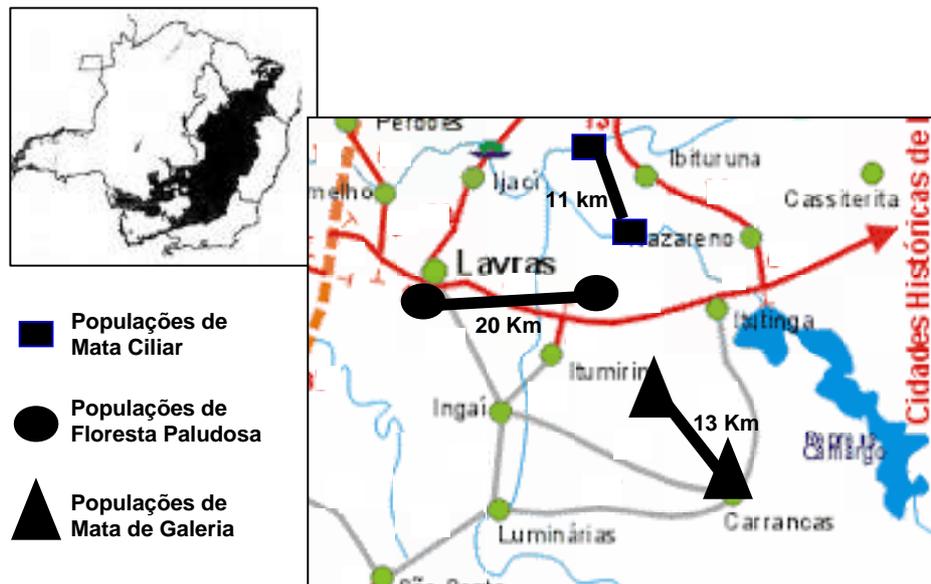


FIGURA 1. Localização das populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas na bacia do Alto Rio Grande.

TABELA 1. Localização, coordenadas geográficas e número de indivíduos amostrados em populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb., na bacia do Alto Rio Grande.

Habitats	População	Localização	Coordenadas	Indivíduos amostrados
Mata Ciliar	RM	Rio das Mortes Bom Sucesso, MG	21°07'20"S 44°48'22"W	60
	RG	Rio Grande Itumirim, MG	21°13'08"S 44°48'14"W	60
Floresta Paludosa	LV	Lavras, MG	21°18'14"S 44°59'17"W	60
	IT	Itumirim, MG	21°15'10"S 44°47'09"W	60
Mata de Galeria	ARA	Cachoeira das Aranhas Serra de Itumirim, MG	21°21'42"S 44°46'05"W	60
	CA	Carrancas, MG	21°28'24"S 44°39'05"W	60

As seis populações estudadas foram escolhidas em função de apresentarem características fisionômicas distintas e por serem propícias à colonização e à perpetuação de *C. brasiliense*. Embora localizadas na bacia do Alto Rio Grande, as populações estudadas se caracterizam por apresentar uma distância entre elas variando de 7,5 a 40,7 km (Tabela 2)

TABELA 2. Distância geográfica (km) entre as populações naturais amostradas de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Populações	RM	RG	LV	IT	ARA	CA
RM	-	10,8	32,9	17,3	26,1	40,7
RG	-	-	24,2	7,5	15,1	30,7
LV	-	-	-	19,3	24	38,2
IT	-	-	-	-	9	26,5
ARA	-	-	-	-	-	13
CA	-	-	-	-	-	-

RM – rio das Mortes, RG – rio Grande; LV – Lavras; IT – Itumirim; ARA – cachoeira das Aranhas e CA – Carrancas

3.2 Populações amostradas nas áreas de Mata Ciliar

População RM – Rio das Mortes

Essa área está localizada às margens do rio das Mortes, a jusante do reservatório da Usina Hidroelétrica do Funil, compreendendo desde a cota máxima do reservatório, localizada no município de Ijaci, MG, até o limite dos municípios de Bom Sucesso e Ibituruna, MG, próximo à comunidade de Aureliano Mourão. A vegetação predominante é típica de Floresta Estacional Semidecidual Aluvial em alguns locais (Veloso et al., 1991), e é altamente antropizada.

Em quase toda a extensão amostrada no rio das Mortes, a vegetação encontra-se presente em apenas um lado da margem, já que a vegetação ciliar foi retirada para a construção de uma linha férrea, atualmente desativada. Os efeitos da degradação e retirada da vegetação ciliar são evidentes. Mesmo protegida por lei, em certos locais, a vegetação está ausente, dando lugar a áreas de pastagem e, principalmente, a agricultura. Nesta população, *C. brasiliense* não se encontra presente em toda a extensão do rio, sendo sua ocorrência limitada a determinados locais, chegando a formar pequenos aglomerados, visto que a umidade e a saturação hídrica não são uniformemente distribuídas em toda a margem.

População RG - Rio Grande

A área II está localizada às margens do rio Grande, também a jusante do reservatório da Usina Hidroelétrica do Funil, compreendendo desde a cota máxima do reservatório, localizada no município de Ijaci, MG, até o ponto conhecido como cachoeira do Pilão, município de Itumirim, MG. A vegetação caracteriza-se por ser típica de Floresta Estacional Semidecidual Aluvial (Veloso et al., 1991). Nesta área, a vegetação ciliar encontra-se mais preservada próximo

à cachoeira do Pilão, devido, principalmente, ao difícil acesso, porém, muito antropizada nas áreas próximas ao reservatório, onde a vegetação ciliar também foi substituída por áreas de pastagem e agricultura. Neste local, *C. brasiliense* distribui-se abundantemente nas áreas mais conservadas, formando populações contínuas.

3.3 Populações amostradas nas áreas de Floresta Paludosa

População LV - Lavras

Essa área de estudo está localizada a, aproximadamente, 6 km do município de Lavras, MG, na encosta da serra do Carrapato. Caracteriza-se por apresentar uma vegetação definida como uma disjunção do Bioma Cerrado, inserida dentro da área de distribuição das florestas estacionais semidecíduais do Sudeste brasileiro (Castro, 2004).

A paisagem característica da região compreende um número reduzido de pequenos remanescentes florestais (fragmentos), circundados por lavouras de café e áreas de pastagem plantada (*Brachiaria* spp.). No interior destes fragmentos, a umidade e a saturação hídrica são variáveis entre eles, sendo influenciadas pelo grau de preservação e também pelos efeitos da antropização sobre a matriz vegetacional. A presença de solo permanentemente encharcado, com fluxo constante ou temporário de água superficial dentro de pequenos canais nos fragmentos, pode estar associada a esses fatores. Assim, dependendo do fragmento, a distribuição de *C. brasiliense* é afetada pelos efeitos da degradação, pela penetração do gado, que prejudica a sua regeneração ou pela ausência de condições propícias ao seu estabelecimento, visto que a umidade e a saturação hídrica são essenciais a sua perpetuação e desenvolvimento.

População IT - Itumirim

Esta área, localizada a 8,5 km do município de Itumirim, MG, também está inserida numa disjunção do Bioma Cerrado, dentro da área de distribuição das florestas estacionais semidecíduais do Sudeste brasileiro (IBGE, 1993). A paisagem característica da região compreende um número reduzido de pequenos remanescentes florestais (fragmentos), predominantemente circundados por lavouras de café e áreas de pastagem plantada.

Também nessa área, a umidade e a saturação hídrica são variáveis dentro dos fragmentos, o que caracteriza a presença de solo permanentemente encharcado ou a formação de fluxo constante ou temporário de água superficial dentro de pequenos canais. Nesta área, também são visíveis os efeitos da degradação, principalmente devido à entrada do gado, que pode estar influenciando a distribuição de *C. brasiliense* dentro dos fragmentos.

3.4 Populações amostradas nas áreas de Mata de Galeria

População ARA – Cachoeira das Aranhas

Este local de estudo é representado por duas microbacias (córrego Batatal e córrego Farias) localizadas a 14 km do município de Itumirim, MG, sentido Carrancas e, em toda a região, é conhecida como cachoeira das Aranhas. As duas microbacias estão demograficamente uma paralela a outra, a uma distância de, aproximadamente, 1,5 km. A fisionomia da vegetação é constituída de matas de galeria, com pontos contínuos ou interrompidos, que apresentam limites bem definidos, com formação não florestal (campo rupestre) e altitude média de 1.200 m. Nas duas microbacias, há a interrupção natural da vegetação em determinados pontos, devido à presença de afloramentos rochosos, fazendo com que a distribuição de *C. brasiliense* não seja constante ao longo dos cursos d'água.

População CA – Carrancas

Esta área é caracterizada por duas microbacias localizadas na entrada do município de Carrancas, MG, sentido Itutinga, na área conhecida como Complexo da Toca. As duas áreas de estudo (microbacias) estão localizadas uma perpendicular a outra, a uma distância de, aproximadamente, 1,3 km. A fisionomia da vegetação é constituída de matas de galeria, com pontos contínuos ou interrompidos que apresentam limites bem definidos, com formação não florestal (campo rupestre) e altitude média de 1.300 m.

Apenas em uma das microbacias, denominada de Escorregador da Toca, há a interrupção natural da vegetação natural em determinados pontos, devido à presença de afloramentos rochosos, o que faz com que a distribuição de *C. brasiliense* não seja uniforme ao longo do curso d'água. Por esta microbacia possuir vários pontos de visitação, propícios a banhos, os sinais de degradação são mais evidentes.

3.5 Amostragem do material biológico

3.5.1 Mata ciliar

Em cada população foram coletadas folhas de 60 árvores adultas para extração enzimática. Essas foram georreferenciadas utilizando-se o Sistema de Posicionamento Global (GPS), a fim de se avaliar a sua distribuição espacial. O caminhamento para a coleta teve como base a cota máxima do reservatório da Usina Hidroelétrica do Funil e a amostragem foi realizada respeitando-se uma distância mínima de 50 m entre as árvores.

Frutos foram coletados para a avaliação do sistema reprodutivo nas duas populações. O número de árvores coletadas foi de 19, no rio das Mortes e no rio Grande, já que nem todas se encontravam em frutificação.

3.5.2 Floresta paludosa

Em cada população, foram coletadas folhas de 60 árvores adultas. Como, nessas áreas, há a ocorrência de ilhas de vegetação (fragmentos), dois fragmentos de cada área foram escolhidos e, em cada um, foram coletadas 30 árvores. Cada fragmento foi considerado uma subpopulação e a amostragem foi realizada buscando-se captar o máximo possível da variabilidade genética dentro dos mesmos, já que a coleta abrangeu todo o fragmento.

A fim de se avaliar a distribuição espacial dos indivíduos, a posição de cada árvore foi obtida por meio da marcação dos eixos x e y , usando-se trena e bússola. Em Lavras, os fragmentos amostrados estão a 620 m de distância um do outro e, em Itumirim, estão a, aproximadamente, 1.700 m.

3.5.3 Mata de galeria

Amostras de folhas de 60 árvores adultas foram coletadas em duas áreas. Em cada área foram escolhidas duas microbacias, denominadas de subpopulações I e II. Em cada uma, trinta árvores distanciadas de 20 m, quando possível, foram amostradas e georreferenciadas utilizando-se o GPS.

Frutos foram coletados para a avaliação do sistema reprodutivo em apenas uma das áreas (cachoeira das Aranhas). O número de árvores coletadas foi de 20, porém, variável entre as subpopulações, pois nem todas se encontravam em frutificação.

Nos três habitats amostrados, as folhas foram acondicionadas em saco plástico, identificadas, levadas para o Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos do DCF/UFLA e armazenadas em freezer, a -80°C , até o momento da extração de enzimas. Os frutos foram despoldados e colocados em sementeiras. Aproximadamente quatro meses após a germinação, as folhas foram coletadas, identificadas e armazenadas em freezer, a -80°C , até o momento da extração de enzimas.

3.6 Extração das enzimas e eletroforese

A extração das enzimas foi feita com 200 mg de tecido foliar, utilizando-se 1 mL da solução tampão de extração (Alfenas, 1998). A extração das enzimas foi feita manualmente, com almofariz e pistilos de porcelana previamente resfriados. Após a maceração, as amostras contendo o extrato protéico foram transferidas para tubos de 1,5 mL e armazenadas, a -80°C, até o momento das análises eletroforéticas.

A eletroforese de isoenzimas utilizada foi a vertical, conduzida em meio suporte de gel de poliacrilamida de 4% para o gel de concentração e de 7,5% e 10% para o gel de separação, dependendo do sistema enzimático. Os extratos obtidos foram centrifugados a 12.000 rpm, a 4°C, por 10 minutos. Após a centrifugação, 40 µL do sobrenadante foram aplicados nas canaletas dos géis para proceder as migrações eletroforéticas. Para a eletroforese, utilizou-se amperagem de 10 mA por gel, com duração aproximada de três horas. Durante toda a migração, a temperatura foi mantida a 4°C. Os procedimentos de preparo do gel, aplicação das amostras e eletroforese seguiram a metodologia descrita por Alfenas (1998).

As revelações dos géis foram baseadas na metodologia descrita por Alfenas (1998). Dez sistemas enzimáticos foram utilizados por apresentarem os melhores padrões isoenzimáticos para interpretação (Tabela 3).

Após o aparecimento das bandas, os géis foram retirados da solução de revelação, lavados em água corrente e interpretados. Posteriormente, os géis foram fixados em solução aquosa de glicerol a 10%, por cerca de 24 horas, a 4°C. A secagem dos géis foi efetuada no secador de gel (modelo 583, BioRad). A leitura das bandas nos géis foi feita sobre a superfície de um diafanoscópio.

TABELA 3. Sistemas enzimáticos utilizados em *Calophyllum brasiliense* Camb.

Sistema enzimático	Sigla	EC*
Álcool desidrogenase	ADH	1.01.01.01
α -esterase	α -EST	3.01.01.01
β -esterase	β -EST	3.01.01.01
Fosfatase ácida	ACP	3.01.03.02
β -galactose desidrogenase	GLDH	1.01.01.48
Glucose desidrogenase	GDH	1.01.01.47
Glutamato desidrogenase	GTDH	1.04.01.03
Malato desidrogenase	MDH	1.01.01.37
Sorbitol desidrogenase	SDH	1.01.01.14
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.01.01.25

* Enzyme Commission

A identificação das zonas codificadoras dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais anódica para a mais catódica. Assim, em um sistema enzimático, em que duas zonas de atividade eram claramente identificadas, a de maior migração no gel recebeu a denominação de loco-1 e a outra, loco-2. Da mesma forma, procedeu-se em relação aos alelos de cada loco.

A identificação e a interpretação dos zimogramas foram realizadas seguindo-se a mesma definição dos padrões de enzimas disponíveis na literatura (Alfenas et al., 1991).

3.7 Caracterização da variabilidade e estrutura genética

3.7.1 Variabilidade genética

O estudo da caracterização da variabilidade genética intra e interpopulacional foi realizado a partir da determinação dos genótipos de cada indivíduo, sendo estes dados analisados por meio dos programas computacionais Genetic Data Analysis, ou GDA (Lewis & Zaykin, 2000) e BIOSYS 2 (Swofford & Selander, 1997).

3.7.2 Freqüências alélicas

Em todas as populações, a variabilidade genética foi analisada a partir das estimativas das freqüências alélicas, que descrevem a variação para um loco e estas foram obtidas pela contagem direta do número de alelos por loco, dividido pelo número total de alelos no loco: $\hat{p}_{ij} = n_{ij}/n_{.j}$, em que \hat{p}_{ij} = freqüência do alelo i, na população j, n_{ij} = número de ocorrência do alelo i, na população j e $n_{.j}$ = número total de alelos amostrados na população j.

3.7.3 Índices de diversidade genética

A partir das freqüências alélicas, foram obtidos os seguintes índices de diversidade genética: heterozigosidade média observada (\hat{H}_o), heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, número médio de alelos por loco (\hat{A}) e porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}).

a) Heterozigosidade média observada (\hat{H}_o)

A heterozigosidade observada para cada loco foi obtida pela razão entre o número total de heterozigotos e o número de indivíduos. Para a sua obtenção, as proporções obtidas para cada loco foram somadas e divididas pelo número total de locos polimórficos: $\hat{H}_o = 1 - \sum P_{ii}$, em que P_{ii} = freqüência dos genótipos homozigotos.

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

A heterozigosidade para cada loco, em uma dada população, foi obtida a partir das freqüências alélicas, segundo as freqüências genotípicas esperadas, conforme equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1987), em que n é o número de indivíduos amostrados na população em questão e \hat{P}_i^2 é a freqüência alélica estimada do i-ésimo alelo: $\hat{H}_e = 2n(\sum \hat{P}_i^2)/(2n - 1)$.

c) Proporção de locos polimórficos (\hat{P})

Um loco foi considerado polimórfico quando a frequência de seu alelo mais comum não ultrapassou 0,95 e 0,99. Dessa forma, \hat{P} foi obtido pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos.

d) Número médio de alelos por loco em cada população e índice de fixação

O número médio de alelos por loco (\hat{A}) em cada população foi obtido pela divisão do número total de alelos pelo número de total de locos.

O coeficiente F de Wright (1931) foi obtido por loco e pela média dos locos, a partir das seguintes relações: $\hat{f} = 1 - \hat{H}_o/\hat{H}_e$ (locos) e $\hat{f} = 1 - \Sigma\hat{H}_o/\Sigma\hat{H}_e$ (média entre locos), sendo \hat{f} a estimativa do índice de fixação de Wright; \hat{H}_o a estimativa da heterozigosidade observada e \hat{H}_e a estimativa da heterozigosidade esperada. Para as estimativas obtidas dos índices de fixação médios considerando cada população, foram estabelecidos intervalos de confiança a 95% de probabilidade, utilizando-se o procedimento de *bootstrap*, com 10.000 repetições (Weir, 1996).

3.7.4 Estrutura genética das populações

O estudo de estrutura genética entre e dentro de populações foi feito mediante o critério do coeficiente de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992), o qual possibilita a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia e a obtenção de estimativas dos níveis de endogamia a partir de uma base não viesada. Como este modelo considera o processo amostral nas estimativas dos parâmetros, a análise de variância apresenta uma maior precisão (Reis, 1996; Sebbenn, 1997).

A análise de variância para os indivíduos adultos foi baseada no seguinte modelo hierárquico:

$$Y_{ijk} = \mu + p_k + aj(k) + g_i(jk)$$

em que:

Y_{ijk} = freqüência (0 ou 1) do alelo i do indivíduo j da população k ;

μ = efeito de uma constante comum a todas as observações;

p_k = efeito da população k ;

$aj(k)$ = efeito do indivíduo j , dentro da população k ;

$g_i(jk)$ = efeito do alelo i , dentro do indivíduo j , dentro da população k ;

O esquema da análise de variância está apresentado na Tabela 4.

TABELA 4. Esquema de análise de variância das freqüências alélicas, com as esperanças dos quadrados médios, E(QM), para adultos de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Causa da variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)
Entre populações	P - 1	QM _P	$\sigma_G^2 + 2\sigma_I^2 + 2n_e\sigma_p^2$
Indivíduos/populações	1 - P	QM _I	$\sigma_G^2 + 2\sigma_I^2$
Alelos/indivíduos/populações	G	QM _G	σ_G^2
Total	n - 1		

Utilizando-se o método dos momentos, seguem-se os seguintes estimadores:

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

$$\hat{\sigma}_I^2 = \frac{QM_I - QM_G}{2}$$

$$\hat{\sigma}_P^2 = \frac{QM_P - QM_I}{K_1}$$

em que:

K_1 – corresponde ao coeficiente das variâncias entre populações.

O significado genético desses componentes, estimados a partir de cada alelo, pode ser definido, em termos de correlações intraclasse, ou coeficientes de coancestralidade, nos diferentes níveis de hierarquia. Assim, com base em Cockerham (1969) e Weir (1996), tem-se que:

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{p}(1-\hat{p})(1-\hat{F})$$

$$\hat{\sigma}_I^2 = \hat{p}(1-\hat{p})(1-\hat{\theta}_P)$$

$$\hat{\sigma}_P^2 = \hat{p}(1-\hat{p})\hat{\theta}_P$$

$$\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_P^2 = \hat{p}(1-\hat{p})$$

em que:

- \hat{p} - frequência alélica em um determinado loco;
- \hat{F} - coeficiente médio de endogamia de todas as plantas nas populações analisadas;
- $\hat{\theta}_P$ - correlação entre as frequências alélicas de diferentes indivíduos da mesma população;

A estimativa do coeficiente de coancestralidade foi obtida a partir dos componentes de variância:

$$\hat{\theta}_P = \frac{\hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_T^2}$$

O coeficiente médio de endogamia de todas as plantas nas populações (\hat{F}) foi estimado por meio da seguinte expressão:

$$\hat{F} = \frac{\hat{\sigma}_T^2 - \hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_T^2}$$

A diferenciação genética de Gregorius (\hat{D}_G) (Gregorius, 1974) foi estimada para cada ambiente e suas respectivas populações, por calcular os erros por permutação. Os dados numéricos foram obtidos por meio do software GDA_NT (*Genetic Data Analysis and Numerical Test*, version 1,0.) (Degen, 2003).

O modelo de Cockerham foi estendido por Vencovsky (1992) para indivíduos dentro de famílias (progênies) dentro de populações, o que fez com que a estimativa de coancestralidade fosse também possível. Assim, o modelo da análise de variância para progênies teve o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + f_k + aj(k) + g_i(jk)$$

em que:

- Y_{ijk} - frequência do alelo i do indivíduo j da progênie k ;
- μ - média geral;
- f_k - efeito da progênie k ;
- $aj(k)$ - efeito do indivíduo j , dentro da progênie k ;
- $g_i(jk)$ - efeito do alelo i , dentro do indivíduo j , dentro da progênie k .

O esquema da análise de variância está apresentado na Tabela 5.

TABELA 5. Esquema de análise de variância das freqüências alélicas, com as esperanças dos quadrados médios, E(QM) para as progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Causa da variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)
Entre progênies	F - 1	QM _F	$\sigma^2_G + 2\sigma^2_I + K_1\sigma^2_F$
Indivíduos/progênies	1 - F	QM _I	$\sigma^2_G + 2\sigma^2_I$
Alelos/indivíduos/progênies	G	QM _G	σ^2_G
Total	n - 1		

Utilizando-se o método dos momentos, seguem-se os seguintes estimadores:

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

$$\sigma_I^2 = \frac{QM_I - QM_G}{2}$$

$$\sigma_F^2 = \frac{QM_F - QM_I}{K_1}$$

em que:

K₁ - Corresponde ao coeficiente das variâncias entre progênies

Com base em Cockerham (1969) e Vencovsky (1992), esses componentes podem ser definidos, em termos de coeficientes de coancestralidade, nos diferentes níveis de hierarquia. Tem-se que:

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{p}(1 - \hat{p})(1 - F)$$

$$\hat{\sigma}_I^2 = \hat{p}(1-\hat{p})(1-\hat{\theta}_F)$$

$$\hat{\sigma}_F^2 = \hat{p}(1-\hat{p})\hat{\theta}_F$$

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

em que:

\hat{p} - frequência alélica em um determinado loco;

\hat{F} - correlação entre alelos de plantas de diferentes progênies ou coeficiente de endogamia de Wright;

$\hat{\theta}_F$ - coeficiente de parentesco ou coancestralidade das plantas dentro de mesma progênie;

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

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

$$\hat{F} = \frac{\hat{\sigma}_T^2 - \hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_T^2}$$

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

em que:

\hat{f} - correlação entre alelos de plantas dentro de progênies ou

coeficiente de endogamia dentro das progênies.

Para verificar se as estimativas médias de $\hat{\theta}_p$, $\hat{\theta}_F$, \hat{F} e \hat{f} eram diferentes de zero, foram estimados intervalos de confiança a 95% de probabilidade, pelo método de reamostragem *bootstrap*, com 10.000 repetições sobre os locos. Para tal, empregou-se o programa GDA de Lewis & Zaykin (2000).

A identidade genética Nei (1972) foi usada como medida de identidade genética entre os pares de populações e, a partir desta estimativa, foi construído o dendrograma, utilizando-se o método UPGMA (sigla para *Unweighted pair group method arithmetic average*, ou Agrupamento não-ponderado aos pares utilizando médias aritméticas), conforme metodologia descrita em Sneath & Sokal (1973). Assim, a existência dos agrupamentos obtidos foi avaliada pelo coeficiente de correlação cofenética, originado da comparação da matriz de similaridade de identidade com a da similaridade cofenética.

Adicionalmente, a identidade genética (Nei, 1972) foi comparada com a matriz de distância geográfica, pelo teste de Mantel (Manly, 1997). O valor Z de Mantel é dado por: $Z = n \sum_{i,j=1} X_{ij} Y_{ij}$, sendo X_{ij} e Y_{ij} elementos das matrizes X e Y a serem comparadas (no caso, as matrizes de distância geográfica e genética, respectivamente). O teste de Mantel foi realizado com o auxílio do programa TFPGA 1.3 (*Tools For Population Genetic Analyses*) (Miller, 1997), utilizando-se 1.000 permutações aleatórias para testar a significância das correlações matriciais.

3.8 Fluxo gênico

O fluxo gênico foi calculado a partir da metodologia proposta por Wright (1951), em que sua estimativa indireta foi obtida a partir do número de

migrantes (\hat{Nm}) por geração, utilizando o \hat{F}_{ST} , que é a medida de diferenciação populacional usando frequências alélicas. A equação proposta por Crow & Aoki (1984) foi utilizada, para um modelo de ilhas, pela seguinte expressão:

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

em que:

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

n = número de populações

\hat{Nm} = número de migrantes

De acordo com Cockerham & Weir (1993), o emprego de $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado do que \hat{F}_{ST} . Entretanto, como na diferenciação genética de Gregorius (Gregorius, 1974), os erros são calculados por permutações. Esta estimativa foi também usada no lugar do $\hat{\theta}_p$, para se determinar o número de migrantes.

O tamanho efetivo de vizinhança (\hat{N}_b) foi utilizado para estimar o número médio de indivíduos numa área vizinha ou área onde ocorre panmixia. A partir da estimativa de \hat{Nm} , calculou-se o valor de \hat{N}_b , conforme fórmula proposta por Slatkin & Barton (1989), em que:

$$\hat{N}_b = 2\pi \cdot \hat{Nm}$$

De acordo Eguiarte et al. (1993) e Slatkin & Barton (1989), o \hat{N}_b pode ser da mesma ordem de magnitude que \hat{N}_m , dependendo das características da população.

3.9 Tamanho efetivo

O tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) foi calculado de acordo com a metodologia apresentada por Vencovsky (1997), utilizando os componentes de variância, uma vez que estes são mais adequadamente usados para fins conservacionistas.

Para uma população, o \hat{N}_e para árvores adultas de uma simples população foi calculado:

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

em que:

n - número de árvores;

f - coeficiente de endogamia médio da população.

Quando consideradas várias populações, calculou-se o \hat{N}_e da seguinte forma:

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

em que:

$\hat{\theta}_p$ - coancestria entre árvores dentro das populações ou divergência genética entre populações;

- p - número de populações avaliadas;
- n - número total de árvores avaliadas nas populações;
- C_P - quadrado do coeficiente de variação de n_i sobre as populações;
- \hat{F} - índice de fixação para o conjunto das populações.

A população mínima viável (PMV), correspondente ao número de indivíduos necessários para a manutenção da integridade genética da população, foi determinada a partir da relação $\hat{N}_{e(\text{referência})} / (\hat{N}_e/n)$, em que: $\hat{N}_{e(\text{referência})}$ é o tamanho efetivo de referência proposto por Nunney & Campbell (1993), sendo 150 e 1.500, para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente; \hat{N}_e é o tamanho efetivo populacional e n é o tamanho amostral de cada fragmento.

3.10 Distribuição espacial dos genótipos

Para a análise da estrutura espacial de *C. brasiliense* foi utilizado o programa SPAGeDi versão 1.1 (Hardy & Vekemans, 2005).

O coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) com base em Ritland (1996) foi estimado entre plantas, para cada uma das classes de distância. O erro padrão da média das estimativas foi obtido por reamostragem *jackknife* entre locos e, a partir dele, foram construídos intervalos de confiança a 95% de probabilidade do coeficiente de coancestria médio estimado para cada classe de distância. A ausência de estrutura genética espacial foi testada dentro de cada classe de distância, utilizando-se 1.000 permutações.

3.11 Análise de segregação

O estudo do padrão de segregação em *C. brasiliense* foi realizado com base no método descrito por Gillet & Hattemer (1989), que compara o genótipo da árvore materna com a segregação de suas progênes de polinização aberta. Devem ser satisfeitas às seguintes condições: a) toda progênie de uma árvore materna $A_i A_i$ de possuir o alelo A_i da árvore mãe; b) em casos de uma mãe heterozigota ($A_i A_j, i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i ou A_j ; ii) o número de progênes heterozigotas $A_i A_j$ (N_{ij}) deve ser igual à soma das progênes homozigotas $A_i A_i$ (N_{ii}) e $A_j A_j$ (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$; iii) o número de progênes heterozigotas $A_i A_k$ (N_{ik}) é esperado ser igual ao número de progênes heterozigotas $A_j A_k$ (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$. Para esta análise, utilizaram-se nas populações de Mata Ciliar, 10 plantas de cada uma das doze progênes da população do rio das Mortes e sete progênes do rio Grande. Para a população de Mata de Galeria, utilizaram-se 10 plantas de cada uma das 20 progênes obtidas na população da cachoeira das Aranhas.

Os fenótipos observados em cada progênie de árvores heterozigóticas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. A hipótese de segregação individual de cada progênie foi aceita ou descartada com base no teste de G padrão, com um grau de liberdade. Posteriormente, todos os testes G foram somados e um teste G total foi obtido ($G_{Hipótese1:1}$). Os fenótipos observados, de progênes de árvores heterozigotas do mesmo genótipo materno, foram somados e um teste G agrupado foi obtido ($G_{Agrupado}$). A hipótese nula desse teste é a de igual proporção dos tipos de gametas na progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. A seguir,

testou-se a hipótese de homogeneidade de segregação entre progênies, usando um teste G de homogeneidade ($G_{Homogeneidade}$), obtido pela subtração do teste $G_{Agrupado}$ do teste $G_{Hipótese1:1}$. Esses testes são aditivos, de forma que, $G_{Hipótese1:1} = G_{Homogeneidade} + G_{Agrupado}$, com n e $n-1$ grau de liberdade, respectivamente (Sousa et al., 2002).

3.12 Análise do desequilíbrio de ligação

O teste de desequilíbrio de ligação entre pares de locos foi realizado com base na medida composta de Burrows (Δ_{ij}), de acordo com Weir (1979). Para a obtenção dessa estimativa, utilizou-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2000). A hipótese nula de desequilíbrio de ligação ($\Delta_{ij} = 0$) foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2), descrito em Weir (1979).

3.13 Sistema reprodutivo

Os modelos de cruzamentos aleatórios, de cruzamentos mistos de Ritland & Jain (1981) e de cruzamentos correlacionados (Ritland, 1989) foram utilizados para a análise do sistema reprodutivo de *C. brasiliense*. Para a avaliação do modelo de cruzamento aleatório, foram utilizados o teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg e também o teste de homogeneidade entre as frequências alélicas de pólen e de óvulos. O programa Biosys 2 (Swofford & Selander, 1997) que calcula o desvio da distribuição dos genótipos observados com relação aos esperados, foi utilizado para verificar a aderência dos dados ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para o teste de homogeneidade das frequências de pólen e óvulos, o \hat{F}_{ST} (Nei, 1977) foi utilizado como uma medida de divergência genética entre as frequências alélicas dos diferentes grupos, conforme os trabalhos de Hall et al.

(1994) e Ribeiro & Lovato (2004). Para testar a significância de \hat{F}_{ST} , para cada loco, aplicou-se o teste de qui-quadrado, conforme Workman & Niswander (1970):

$$X_c^2 = 2n\hat{F}_{ST}(k-1)$$

$$GL = (k-1)(s-1)$$

em que:

- n - número de indivíduos nos dois grupos;
- k - número de alelos;
- s - número de grupos.

A análise do sistema reprodutivo de *C. brasiliense* seguiu o modelo de cruzamento misto de Ritland & Jain (1981), usando o programa “MLTR” de Ritland (1997). De acordo com os autores, o modelo de cruzamento assume que as progênes resultam de uma mistura de cruzamentos aleatórios e autofecundação e suas pressuposições básicas são:

1. cada evento de reprodução é o resultado de cruzamentos aleatórios (com probabilidade t) ou de autofecundação (com probabilidade s);
2. a probabilidade de cruzamentos é independente do genótipo materno;
3. o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento com todos os genótipos maternos;
4. os alelos de diferentes locos segregam de maneira independente;
5. os locos avaliados não sofreram mutação ou seleção entre o tempo de cruzamento e a análise.

Da análise, foram estimadas a taxa de cruzamento multilocos (\hat{t}_m), pelo método da máxima verossimilhança, a taxa de cruzamentos unilocos (\hat{t}_s), a

taxa de cruzamento entre aparentados ($\hat{t}_p = \hat{t}_m - \hat{t}_s$), as frequências alélicas do óvulo e pólen (o e p), também pelo método da máxima verossimilhança, a taxa de cruzamento por árvore materna, a proporção de autofecundação ($\hat{s} = 1 - \hat{t}_m$), a correlação de autofecundação entre dois irmãos (\hat{r}_s) e a correlação de paternidade entre dois irmãos (\hat{r}_p). Para estimar o erro padrão da média para todos os parâmetros, o programa utilizou o procedimento de amostragem *bootstrap*, com 1.000 reamostragens, com base em Vencovsky et al. (1997). Para a taxa de cruzamento individual por árvore materna, a unidade de amostragem foram as plantas dentro das matrizes e matrizes para a taxa de cruzamento média das populações.

O coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) dentro das progênies foi estimado do coeficiente de correlação de parentesco (\hat{r}_{xy}), entre plantas dentro de progênies, conforme Ritland (1989).

$$\hat{r}_{xy} = 0,25(1 + \hat{F}_p)[4\hat{s} + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s](1 + \hat{r}_p)$$

sendo, \hat{F}_p o coeficiente de endogamia da geração parental.

Os demais parâmetros foram definidos anteriormente. Como em espécies diplóides, na ausência de endogamia, o coeficiente de parentesco (\hat{r}_{xy}) é o dobro do coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$), tem-se que $\hat{\theta}_{xy} = \hat{r}_{xy} / 2$, ou ,

$$\hat{\theta}_{xy} = 0,125(1 + \hat{F}_a)[4\hat{s} + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s](1 + \hat{r}_p)$$

O tamanho efetivo de variância ($\hat{N}_{e(v)}$) de uma simples progênie foi estimado com base em Cockerham (1969).

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{n + \hat{F}_p}{2n}}$$

sendo n o número de plantas por progênie e \hat{F}_p o coeficiente de endogamia nas progênies.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sistemas enzimáticos

Dez sistemas enzimáticos foram selecionados para a caracterização da variabilidade genética dos adultos e das progênies de *C. brasiliense*, por apresentarem boa resolução do padrão de bandas e polimorfismo dos locos. Os sistemas utilizados foram: álcool desidrogenase (ADH), α -esterase (α -EST), β -esterase (β -EST), fosfatase ácida (ACP), β -galactose desidrogenase (GLDH), glucose desidrogenase (GDH), glutamato desidrogenase (GTDH), malato desidrogenase (MDH), sorbitol desidrogenase (SDH) e xiquimato desidrogenase (SKDH).

Destes sistemas, 14 locos polimórficos foram passíveis de interpretação para as árvores reprodutivas amostradas. Todos apresentaram estrutura monomérica da enzima, com segregação de dois alelos em cada loco. Nos sistemas α -EST e β -EST, foi possível a interpretação de dois locos, um na região catódica e outro na anódica. O sistema ACP apresentou quatro locos, porém, apenas três foram utilizados na análise. Já os demais apresentaram apenas um loco passível de interpretação.

Para as progênies, 12 locos polimórficos foram passíveis de interpretação nas populações amostradas no rio das Mortes e rio Grande, apresentando estrutura dimérica da enzima, também com segregação de dois alelos em cada loco. Os sistemas β -EST e ACP apresentaram dois locos e os demais apenas um. Para as progênies das árvores de *C. brasiliense* amostradas na cachoeira das Aranhas, 10 locos polimórficos foram passíveis de interpretação, com segregação de dois alelos em cada loco. Nestas progênies, todos os sistemas enzimáticos apresentaram apenas um loco.

O número de locos polimórficos utilizados com marcadores isoenzimáticos em espécies arbóreas é bastante variável. Moura (2005), para

avaliar a distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* MacLeich, utilizou 21 locos polimórficos. Vieira (2005) utilizou 10 locos polimórficos para a caracterização da diversidade e estrutura genética de populações fragmentadas de *Protium spruceanum* Benth. Jaeger (2004) realizou a caracterização genética e demográfica de populações naturais de Mata de Galeria de *Xylopia emarginata* Mart., utilizando 11 locos polimórficos. Já Ng et al. (2004) e Telles et al. (2003) consideraram, a partir de quatro locos, um número considerável para se acessar a variabilidade genética. Entretanto, Berg & Hamrick (1997) sugerem um mínimo de 10 locos polimórficos para os estudos de diversidade e estrutura genética por isoenzimas. Assim, o número de locos polimórficos obtidos para as árvores adultas e para as progênes neste estudo é suficiente para a avaliação e a caracterização da variabilidade genética, da estrutura, do fluxo gênico e da distribuição espacial de *C. brasiliense*.

4.2 Mata Ciliar

4.2.1 Freqüências alélicas

Os dados das freqüências alélicas das árvores de *C. brasiliense* amostradas em áreas de Mata Ciliar são apresentados na Tabela 6.

A análise das freqüências alélicas das árvores reprodutivas e das progênes das populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar mostra a segregação de dois alelos em cada loco e a ausência de alelos exclusivos em todos os locos analisados. Entretanto, a distribuição das freqüências alélicas apresenta uma variação entre as populações, por exemplo, nos locos ADH1, α -EST1 e β -EST2, entre outros.

TABELA 6. Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) de árvores reprodutivas e progênies de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Loco	Alelos	Adultos		Progênies	
		Rio das Mortes	Rio Grande	Rio das Mortes	Rio Grande
ADH1	1	0,347	0,767	0,454	0,418
	2	0,653	0,233	0,546	0,582
	n	59	60	108	61
α -EST1	1	0,467	0,583	0,523	0,541
	2	0,533	0,417	0,477	0,459
	n	60	60	109	61
α -EST2	1	0,364	0,375	-	-
	2	0,636	0,625	-	-
	n	59	60	-	-
β -EST1	1	0,368	0,350	0,404	0,419
	2	0,632	0,650	0,596	0,581
	n	57	60	109	62
β -EST2	1	0,567	0,408	0,514	0,532
	2	0,433	0,592	0,486	0,468
	n	60	60	107	62
ACP1	1	0,555	0,534	0,514	0,379
	2	0,445	0,466	0,486	0,621
	n	55	58	108	62
ACP2	1	0,491	0,839	0,593	0,623
	2	0,509	0,161	0,407	0,377
	n	53	59	107	61
ACP3	1	0,585	0,466	-	-
	2	0,415	0,534	-	-
	n	59	59	-	-
GLDH1	1	0,433	0,650	0,330	0,443
	2	0,567	0,350	0,670	0,557
	n	60	60	106	53
GDH1	1	0,500	0,608	0,398	0,371
	2	0,500	0,392	0,602	0,629
	n	60	60	108	62
GTDH1	1	0,392	0,800	0,371	0,557
	2	0,608	0,200	0,629	0,443
	n	60	60	105	61

“... continua ...”

“Tabela 6 Cont.”

MDH1	1	0,383	0,600	0,443	0,452
	2	0,617	0,400	0,557	0,548
	n	60	60	106	62
SDH1	1	0,321	0,300	0,429	0,387
	2	0,679	0,700	0,571	0,613
	n	60	60	106	62
SKDH1	1	0,636	0,408	0,414	0,412
	2	0,364	0,592	0,586	0,588
	n	59	60	105	57

n = número de árvores amostradas

Embora tenha sido observada, nas árvores reprodutivas e nas progênes, uma variação na distribuição das frequências alélicas, em alguns locos a variação foi moderada, o que leva a supor que estes estejam em equidade gênica, com baixa amplitude de variação. Frankel et al. (1996) consideram em equidade gênica os locos que apresentam frequências alélicas entre 0,350 e 0,650. Na população de árvores reprodutivas de *C. brasiliense* do rio das Mortes, as frequências alélicas apresentaram-se igualmente distribuídas na maior parte dos locos. Assim, 57% destes (ADH1, α -EST1, β -EST2, ACP1, ACP2, ACP3, GLDH1 e GDH1) apresentaram equidade gênica, ou seja, baixa variação na distribuição de suas frequências alélicas.

Para as árvores reprodutivas amostradas no rio Grande, moderada variação entre as frequências dos dois alelos foi detectada em, aproximadamente, 50% dos locos (α -EST1, β -EST1, β -EST2, ACP1, ACP3, GLDH1, SKDH1). As maiores alterações nas frequências alélicas foram observadas nos locos ADH1, ACP2 e GTDH1, indicando possíveis efeitos da deriva genética nesta população.

Esta proporção de equidade gênica nas árvores reprodutivas demonstra que as populações de *C. brasiliense*, localizadas próximas ao rio das Mortes e rio Grande, podem, no futuro, estar susceptíveis à fixação e perda de alelos.

Porém, não se pode prever se tal fato influenciará a sua estrutura genética, uma vez que a equidade gênica não é uma estimativa de estruturação espacial e nem de fluxo gênico; ela apenas gera indícios de diversidade genética intrapopulacional e da baixa amplitude de variação nas frequências alélicas entre locais.

Comparando-se as frequências alélicas das árvores reprodutivas e das progênies, observa-se que algumas distribuições mantiveram-se constantes entre as gerações. Na população amostrada no rio das Mortes, 58% dos locos possuem o mesmo alelo comum, tanto nas árvores adultas como nas suas progênies. Na população amostrada no rio Grande, isso ocorre em 43% dos locos. Esses valores não permitem prever a existência de um possível equilíbrio entre as gerações, já que estas variações podem estar associadas a diferenças, como o número de indivíduos amostrados entre as gerações ou aos possíveis efeitos da deriva genética atuando sobre estas.

Apesar da não ocorrência de alelos exclusivos nas progênies, vale ressaltar a ausência dos locos α -EST2 e ACP3. Assim, caso os alelos desses locos estejam associados a combinações gênicas essenciais ao desenvolvimento de *C. brasiliense*, esta ausência poderá influenciar significativamente a estrutura genética destas populações.

A baixa equidade gênica encontrada nas árvores reprodutivas não foi refletida nas progênies. Nas progênies da população do rio das Mortes, 75% dos locos (ADH1, α -EST1, β -EST1, ACP1, ACP2, MDH1, SDH1, SKDH1) apresentam baixa variação na distribuição de suas frequências alélicas, demonstrando estar em equidade gênica. Nas progênies do rio Grande, 67% dos locos analisados estão em equidade gênica. Nas duas populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar, eventualmente, uma perda ou fixação de alelos pode vir a acontecer, porém, a equidade gênica parece estar conseguindo se manter entre as gerações.

Assim, a perpetuação de alelos importantes ao processo evolutivo da espécie entre as gerações pode estar se mantendo, apesar de estes estarem susceptíveis a fatores extrínsecos (antropização, preservação da matriz vegetacional, conectividade entre as populações) e intrínsecos à espécie (polinização, dispersão e sistema de reprodução). Possíveis mudanças na distribuição da variabilidade genética de *C. brasiliense* podem acontecer no tempo e no espaço, porém, a probabilidade dessas mudanças estarem diretamente ligadas a fatores extrínsecos à espécie é maior, pois a sua preferência por certos tipos de hábitat pode direcionar, significativamente ou não, a sua colonização e perpetuação e isso pode alterar a distribuição da sua variabilidade.

4.2.2 Índices de diversidade genética

A partir da análise das frequências alélicas das árvores reprodutivas e das progênies, foram estimados os índices de diversidade genética para as populações de *C. brasiliense*, amostradas em áreas de Mata Ciliar (Tabela 7).

As populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar apresentaram 100% de polimorfismo, tanto nas árvores reprodutivas como nas progênies. O número de alelos por loco foi 2,0, próximo ao valor encontrado para outras espécies arbóreas, utilizando marcadores isoenzimáticos (Botrel & Carvalho, 2004; Casiva et al., 2004; Gonzáles & Hamrick, 2005; Gusson et al., 2005).

As heterozigosidades observada (\hat{H}_o) e esperada (\hat{H}_e) apresentaram altos valores nas árvores reprodutivas e nas progênies, sendo de 0,493 e 0,482, respectivamente, nas árvores amostradas no rio das Mortes e na população amostrada no rio Grande; a estimativa de \hat{H}_e foi maior que \hat{H}_o . Assim, na população de *C. brasiliense* amostrada no rio das Mortes, o índice de fixação foi baixo (-0,023) e não diferente de zero. Na população amostrada no rio Grande,

este valor foi 0,262 e estatisticamente diferente de zero, mostrando que as frequências genotípicas observadas desviam-se das frequências esperadas, segundo os pressupostos de EHW.

TABELA 7. Variabilidade genética de árvores reprodutivas e progênes de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb., amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Índices de diversidade	Adultos		Progênes	
	Rio das Mortes	Rio Grande	Rio das Mortes	Rio Grande
Porcentagem de locos polimórficos (0,99)	100	100	100	100
Número médio de alelos por loco	2,0	2,0	2,0	2,0
Heterozigosidade observada (\hat{H}_o)	0,493 (0,024)	0,327 (0,020)	0,502 (0,024)	0,477 (0,003)
Heterozigosidade esperada (\hat{H}_e)	0,482 (0,005)	0,443 (0,018)	0,486 (0,005)	0,488 (0,029)
Índice de fixação (\hat{f})	-0,023 [-0,199;0,071]	0,262* [0,145;0,378]	-0,031 [-0,112;0,064]	0,023 [-0,08;0,143]
Tamanho da amostra (n)	60	60	120	70

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança; * = significativo a 5% de probabilidade

Sebbenn et al. (2003) discutem que desvios do EHW, em locos supostamente neutros como isoenzimas, implicam que a população está subdividida, reprodutivamente, em grupos com certo grau de parentesco, cruzamentos não aleatórios (autofecundação e cruzamentos biparentais) ou deriva genética e que, possivelmente, a subdivisão está associada à existência de estruturas de famílias dentro da população.

Os valores de heterozigosidades encontrados para *C. brasiliense* estão condizentes com outros trabalhos realizados em populações de espécies arbóreas localizadas em Mata Ciliar. Pinto et al. (2004), estudando populações de Mata Ciliar de *Copaifera langsdorffii* Desf., encontraram valores de \hat{H}_o de 0,483 e

0,227 e valores de \hat{H}_e de 0,396 e 0,282. Oliveira (2000), estudando a mesma espécie, encontrou valores de 0,483 para \hat{H}_o e 0,396 para \hat{H}_e . Póvoa (2002), estudando *Cedrela fissilis* Vell., encontrou valores de 0,398, para \hat{H}_o e de 0,419, para \hat{H}_e . Sebbenn et al. (2003), para *Genipa americana* L., encontraram valores de \hat{H}_o e \hat{H}_e inferiores aos encontrados para *C. brasiliense*, 0,195 e 0,182, respectivamente. Kawaguici & Kageyama (2001), estudando *Calophyllum brasiliense*, também encontraram valores inferiores de heterozigosidade em relação aos encontrados neste estudo, sendo de 0,191 e 0,208, respectivamente.

Para as progênies, nas populações de *C. brasiliense* amostradas no rio das Mortes e rio Grande, os valores de suas heterozigosidades foram maiores do que nas árvores reprodutivas, evidenciando a ocorrência de maior diversidade nas progênies. Trabalhos como o de Gandara (1996) e o de Póvoa (2002), com *Cedrela fissilis* Vell., também evidenciaram a ocorrência de maior diversidade nas progênies. Segundo estes autores, espécies classificadas, dentro do grupo sucessional como secundária tardia, como é o caso de *C. brasiliense* e *C. fissilis*, tendem a apresentar maior diversidade na fase de plântulas. As plântulas necessitam de certas condições extrínsecas à espécie para sua colonização e perpetuação. Portanto, como as condições do seu local de ocorrência podem vir a promover uma seleção entre elas, com o tempo, há uma redução no número de indivíduos, o que reduziria a variabilidade genética nos adultos.

Giudice Neto (1999), estudando populações de *Machaerium villosum*, concluiu que pode ser esperada uma maior heterozigosidade nas progênies, por estas, na maioria das vezes, apresentarem alelos exclusivos. No entanto, nas progênies das populações de Mata Ciliar, mesmo não sendo detectado este fato, os valores de heterozigosidade ultrapassaram os níveis de heterozigosidade encontrados nos adultos.

Nas progênies amostradas no rio das Mortes, observa-se que a heterozigosidade observada foi de 0,502, a esperada de 0,486 e o índice de

fixação -0,031. Nas progênies do rio Grande, a heterozigosidade observada foi de 0,477, a esperada de 0,488 e o índice de fixação de 0,023, não significativo. Os valores de \hat{f} entre as árvores e as progênies amostradas no rio das Mortes são próximos, embora não seja detectada significância nos valores encontrados. Segundo Póvoa (2002), valores de \hat{f} mais altos em adultos e menores em progênies podem indicar aumento de endogamia da progênie para os adultos, o que é contrastante com dados obtidos para outras espécies arbóreas. Entretanto, \hat{f} maiores em adultos em relação às progênies também foram observados para *Trichilia tuberculata* (Murawski & Hamrick, 1991), *Couratari guianensis* e *C. multiflora* (Lepsch-Cunha, 1996), *Cedrela fissilis* (Póvoa, 2002) e *Eremanthus erythropappus* (Moura, 2005).

4.2.3 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade para as árvores e progênies das populações *C. brasiliense* amostradas em áreas de Mata Ciliar são apresentados na Tabela 8.

Analisando-se as populações de árvores reprodutivas na Mata Ciliar, observa-se a ocorrência de endogamia, tanto para o conjunto das populações ($\hat{F} = 0,191$) como dentro das populações ($\hat{f} = 0,114$). Tal fato pode estar associado a diversos fatores, entre eles, o estado de preservação dessas áreas. Como, nesse hábitat, as populações de *C. brasiliense* encontram-se com tamanho reduzido e antropizadas, a distribuição da variabilidade genética pode estar concentrada em pequenos grupos de indivíduos, fazendo com que ocorra endogamia dentro e entre as populações.

TABELA 8. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}), da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$), da divergência genética entre indivíduos dentro de progênies ($\hat{\theta}_F$) e diferenciação genética de Gregorius (\hat{D}_G) de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Adultos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	\hat{D}_G
Mata Ciliar	0,114* [0,024;0,191]	0,191* [0,131;0,248]	0,086* [0,030;0,151]	0,174
Rio das Mortes	-0,046 [-0,153;0,057]	-	-	-
Rio Grande	0,311* [0,186;0,427]	-	-	-
Progênies	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	\hat{D}_G
Rio das Mortes	-0,071 [-0,158;0,033]	-0,028 [-0,108;0,065]	0,039* [0,018;0,061]	0,123
Rio Grande	0,001 [-0,161;0,144]	-0,036 [-0,188;0,103]	-0,038* [-0,058;-0,017]	0,126

[] = intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%)

* = significativo, a 5% de probabilidade

O índice de fixação para as árvores reprodutivas foi de -0,046 na população amostrada no rio das Mortes, indicando ausência de endogamia, embora este valor não seja diferente de zero, a 95% de probabilidade. Na literatura, outros estudos têm relatado o excesso de heterozigotos em populações naturais de espécies arbóreas, como em *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Pinto & Carvalho, 2004), *Caryocar brasiliense* Camb. (Melo Júnior et al., 2004), *Trema micrantha* (Ribas & Kageyama, 2004), *Protium spruceanum* (Benth.) Engler (Vieira, 2005). Na população amostrada no rio Grande, a estimativa média obtida mostra a ocorrência de endogamia nesta população ($\hat{f} = 0,311$), demonstrando excesso de homozigotos em relação ao esperado pelas proporções do EHW.

A estimativa de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) das árvores nas populações de *C. brasiliense* foi de 0,086, indicando que maior parte da variabilidade genética (91,4%) encontra-se dentro das populações. Entretanto, a medida de diferenciação genética de Gregorius mostrou que 17,5% da diversidade genética encontra-se entre as populações e 82,5% dentro destas. Segundo Loveless & Hamrick (1984), as espécies tipicamente alógamas apresentam variabilidade genética alta dentro de populações. A divergência entre populações é reduzida com o aumento do fluxo gênico (pólen e ou sementes) entre as mesmas. As estimativas de divergência genética encontradas para *C. brasiliense* foram relativamente maiores que os valores obtidos para outras espécies arbóreas tropicais, por exemplo, de 3,5% para *Eremanthus erythropappus* (Moura, 2005), de 8,3% para *Xylopia emarginata* (Jaeger, 2004), de 6,1% para *Machaerium villosum* (Botrel & Carvalho, 2004) e de 2% para *Caryocar brasiliense* (Melo Júnior et al., 2004).

Para as progênies amostradas no rio das Mortes, foi verificada ausência de endogamia dentro das famílias e também para as famílias dentro da população, sendo $\hat{f} = -0,071$ e $\hat{F} = -0,028$. Nas progênies amostradas no rio Grande, o valor de \hat{f} foi 0,001 e \hat{F} de -0,036, demonstrando ausência de endogamia. A estimativa da divergência genética entre indivíduos dentro das progênies no rio das Mortes mostrou-se baixa, ou seja, de 3,9% e, entre as famílias amostradas no rio Grande, não foi detectada divergência genética. Entretanto, a medida de diferenciação genética de Gregorius mostrou que 12,3% da diversidade genética encontra-se entre as famílias no rio das Mortes e 12,6% no rio Grande.

4.2.4 Fluxo gênico

Os valores de fluxo gênico estimados para as árvores reprodutivas de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar foram relativamente baixos, indicando que o número de migrantes não é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética (Tabela 9).

Estimativas de fluxo gênico encontradas para populações naturais de Mata Ciliar de *Copaifera langsdorffii* também mostraram baixos valores. Oliveira (2000) e Pinto et al. (2004) encontraram um fluxo gênico de 0,41 e 0,29, respectivamente, evidenciando baixo valor aparente também para esta espécie, neste hábitat.

TABELA 9. Fluxo gênico ($\hat{N}m$) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) de indivíduos adultos de populações naturais de Mata Ciliar de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Populações de estudo	N	$\hat{N}m$	\hat{N}_b
Mata Ciliar	120	0,296	1,85

N = número de indivíduos amostrados

De acordo com Smouse & Sork (2004), o valor do fluxo gênico calculado a partir da divergência genética reflete o fluxo gênico que ocorreu durante um longo período. A estimativa não indica se está havendo fluxo gênico em determinado evento reprodutivo, mas calcula os níveis de fluxo gênico que devem ter ocorrido para produzir os padrões observados de estrutura genética.

O número de migrantes entre o rio das Mortes e o rio Grande é baixo, possivelmente devido à distribuição espacial das árvores, à distância geográfica das populações (aproximadamente 11 km), à matriz vegetacional na qual estão inseridas e também aos mecanismos de dispersão (zoocoria, hidrocoria e barocoria) e polinização da espécie (entomofilia). Dependendo do local de ocorrência, *C. brasiliense* pode apresentar distribuição agregada, formando

pequenos maciços. Considerando a distância entre as populações do rio das Mortes e do rio Grande e também por estarem localizadas numa matriz vegetacional bastante antropizada, é comum que as populações remanescentes fiquem restritas a certas áreas. Assim, o fluxo gênico atual pode estar sendo comprometido, o que, futuramente, pode levar a um comprometimento da variabilidade genética de *C. brasiliense* nestes ambientes.

Segundo Bawa (1976), o movimento de pólen por zoofilia pode ser altamente direcional, com a maioria dos vôos do polinizador ocorrendo entre árvores adjacentes. Assim, pode-se esperar um fluxo de pólen limitado nestas espécies, quando comparadas com populações de espécies com dispersão anemófilas, o que pode refletir diretamente no tamanho de vizinhança e na estrutura genética das populações.

A unidade panmítica ou vizinhança (\hat{N}_b) também foi estimada. Os resultados indicam que, para o hábitat Mata Ciliar, esta estimativa foi de, aproximadamente, duas árvores. De acordo com Slatkin & Barton (1989), esta estimativa compõe os grupos parentais que trocam alelos ao acaso. Para Reis (1996), um número menor de indivíduos em uma mesma unidade de área implica em aumento da divergência entre as vizinhanças, em decorrência do aumento interno dos níveis de endogamia, alterando a estrutura genética da população a médio prazo.

4.2.5 Distribuição espacial dos genótipos

A distribuição espacial das árvores de *C. brasiliense* amostradas na Mata Ciliar é apresentada na Figura 2.

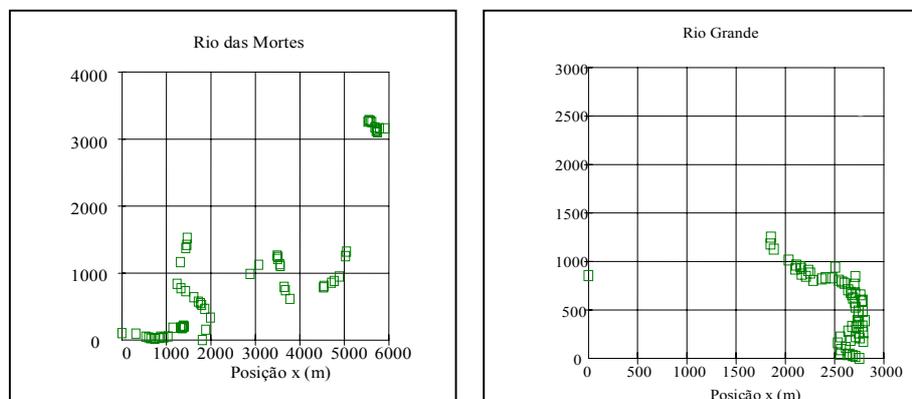


FIGURA 2. Posição e distribuição espacial de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Na população amostrada no rio das Mortes, as árvores de *C. brasiliense* têm distribuição aleatória, apesar da ocorrência de pequenos maciços em determinados locais, que podem estar relacionados a fatores como o grau de preservação da vegetação, ausência da vegetação ciliar ou também devido à falta de ambientes propícios ao estabelecimento da espécie. Na população amostrada no rio Grande, a distribuição espacial das árvores de *C. brasiliense* se mantém uniforme; elas tendem a se agrupar. Assim, o grau de preservação e a conservação da vegetação ciliar localizada nestas áreas e o difícil acesso contribuem para este agrupamento dos indivíduos, uma vez que há a formação de áreas favoráveis ao seu estabelecimento e desenvolvimento.

Os correlogramas ilustrando a distribuição espacial dos genótipos nas populações de *C. brasiliense*, amostradas no rio das Mortes e Rio Grande, são apresentados na Figura 3. De acordo com os dados, observa-se, nas duas populações, a existência de uma tendência de as árvores mais próximas apresentarem maior valor de coancestria do que as mais distantes.

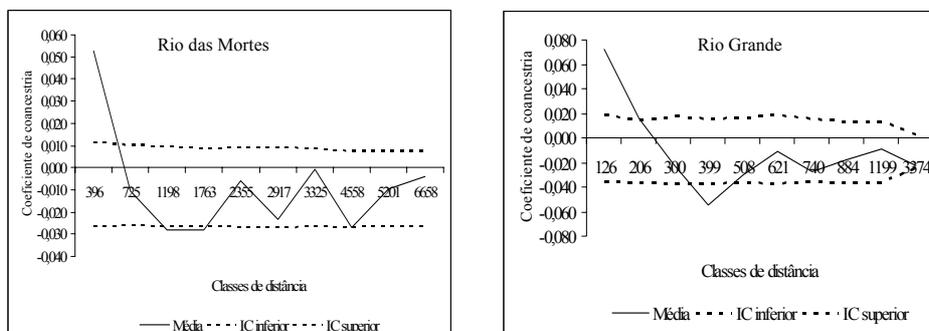


FIGURA 3. Correlograma para o coeficiente de coancestria para classes de distância de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Valores positivos e significativos de coancestria foram detectados entre pares de árvores, a uma distância de até 440 m, na população do rio das Mortes e até 180 m no rio Grande. Dessa forma, para a coleta de sementes, deve-se considerar uma distância mínima entre as matrizes, para melhor captar a variabilidade genética da espécie e, assim, garantir sua perpetuação ao longo do tempo. Tal medida é crucial para a manutenção da base genética dessa espécie.

4.2.6 Tamanho efetivo

As estimativas de tamanho efetivo obtidas para as populações de *C. brasiliense*, amostradas em Mata Ciliar, encontram-se na Tabela 9.

O tamanho efetivo estimado para as duas populações foi de 107 árvores, sendo menor que o número de árvores amostradas, que foi de 120. Na população do rio Grande, a estimativa de \hat{N}_e foi de 46 árvores, menor que o número de árvores amostradas (60 árvores). Na população do rio das Mortes, o \hat{N}_e foi 63, maior que o número de árvores amostradas, também 60, indicando ausência de parentesco e, um maior número de árvores heterozigóticas ($\hat{f} = -0,023$). De

acordo com Sebbenn et al. (2003), a representatividade genética dos indivíduos em uma população está associada com as condições de heterozigose.

TABELA 9. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (n) e população mínima viável (PMV) para populações de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em Mata Ciliar.

Populações	\hat{N}_e	N	\hat{N}_e/n	150*	1.500*
				PMV	PMV
Rio das Mortes	63	60	1,05	143	1.428
Rio Grande	46	60	0,76	197	1.974
Mata Ciliar	107	120	0,89	168	1.685

* Tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e(\text{referência})}$): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

Considerando a conservação *in situ* de *C. brasiliense*, foi calculada a relação $\hat{N}_{e(\text{referência})} / (\hat{N}_e/n)$, para a estimativa da população mínima viável (PMV), ou seja, o número mínimo de árvores necessário para a manutenção dos níveis de variabilidade genética nestas populações. O tamanho efetivo de referência utilizado foi de 150 e 1.500 indivíduos, proposto por Nunney & Campbell (1993), para a conservação a curto e longo prazo (Tabela 9).

Para a manutenção da variabilidade genética de *C. brasiliense*, na população amostrada no rio das Mortes, são necessárias 143 e 1.428 árvores para a manutenção de sua variabilidade genética a curto e a longo prazo, respectivamente. Na população amostrada no rio Grande, esses valores foram de 197 e 1.974 árvores. Para o habitat Mata Ciliar, o número de árvores foi de 168 e 1.685. A conservação dos ambientes ciliares mantém não só a diversidade genética das espécies que dominam e colonizam estas áreas, mas também amplia a base genética de outros ecossistemas. Isso porque, como corredores ecológicos, as áreas ciliares tornam mais amplas a dispersão e a polinização,

fazendo com que a variabilidade genética das espécies seja capaz de se manter no tempo e no espaço.

4.2.7 Sistema reprodutivo

4.2.7.1 Padrões de segregação

Não foram detectados indícios de heterogeneidade de segregação entre as progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno, para os locos avaliados, tanto no rio das Mortes como no rio Grande. O teste $G_{Homogeneidade}$ não detectou diferenças significativas para nenhum dos locos analisados, indicando que a segregação é homogênea em progênies de diferentes árvores de mesmo genótipo materno (Tabelas 10 e 11). No rio das Mortes, o loco SKDH1 apresentou desvio significativo da hipótese de segregação 1:1, no teste $G_{Agrupado1:1}$, devido ao excesso de homozigotos, evidenciado pela relação $N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$. No entanto, quando a progênie de árvore heterozigótica, apresentando desvio significativo da razão de segregação 1:1 (Tabela 12), foi excluída da análise, o loco SKDH1 ajustou-se à hipótese de segregação 1:1.

TABELA 12. Árvore de *Calophyllum brasiliense* Camb. que apresentou desvio significativo no teste G para a segregação meiótica 1:1.

Rio das Mortes	Genótipo materno	N_{ij}	$N_{ii} + N_{jj}$	G
Loco/número da árvore				GL = 1
SKDH1				
19	A_1A_2	2	8	3,85*

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

(*) $P < 0,050$ (**) $P < 0,010$

TABELA 10. Teste para a hipótese de segregação regular de marcadores isoenzimáticos em progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. provenientes do rio das Mortes.

Loco	Genótipo materno		Número árvores(n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$\sum G_{Hipotese1:1}$ $GL = n$	$G_{Homogeneidade}$ $GL = n - 1$	$G_{Agrupado1:1}$ $GL = n$	Árvores com desvio segregação
Rio das Mortes								
ADH1	A_1A_2	a	9	48:35	9,50	7,46	2,04	-
α -EST1	A_1A_2	a	8	36:35	3,70	3,69	0,01	-
β -EST1	A_1A_2	a	6	32:22	3,72	1,85	1,86	-
β -EST2	A_1A_2	a	8	38:35	3,67	3,54	0,12	-
ACP1	A_1A_2	a	5	26:19	1,45	0,36	1,09	-
ACP2	A_1A_2	a	3	20:10	4,66	1,26	3,40	-
GLDH1	A_1A_2	a	8	32:36	4,72	4,49	0,24	-
GDH1	A_1A_2	a	4	22:18	2,45	2,05	0,40	-
GTDH1	A_1A_2	a	6	25:29	2,65	2,35	0,30	-
MDH1	A_1A_2	a	7	29:33	3,31	3,06	0,26	-
SDH1	A_1A_2	a	4	14:21	2,24	0,83	1,41	-
SKDH1	A_1A_2	a	7	21:40	8,87	2,85	6,02*	1
		b	6	19:32	5,01	1,66	3,35	-

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são números observados de genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

a: inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b: exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,05$ (**) $P < 0,01$

TABELA 11. Teste para a hipótese de segregação regular de marcadores isoenzimáticos em progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb., provenientes do rio Grande.

Loco	Genótipo materno		Número árvores(n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$\sum G_{Hipotese1:1}$ $GL = n$	$G_{Homogeneidade}$ $GL = n - 1$	$G_{Agrupado1:1}$ $GL = n$	Árvores com desvio segregação
ADH1	A_1A_2	a	5	13:19	1,57	0,43	1,13	-
β -EST1	A_1A_2	a	3	16:10	3,49	1,40	2,09	-
β -EST2	A_1A_2	a	3	15:13	1,20	0,14	1,06	-
GLDH1	A_1A_2	a	2	8:11	1,17	0,70	0,48	-
GDH1	A_1A_2	a	2	12:8	1,65	0,84	0,81	-
GTDH1	A_1A_2	a	3	14:12	0,77	0,61	0,15	-
SDH1	A_1A_2	a	3	12:18	4,60	3,39	1,21	-
SKDH1	A_1A_2	a	2	7:8	0,53	0,46	0,07	-

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são números observados de genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

a: inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b: exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,05$ (**) $P < 0,01$

Desvios de segregação têm sido observados em diversos estudos da herança isoenzimática de espécies arbóreas tropicais e temperadas (Adams & Joly, 1980; Cheliak & Pitel, 1985; Konnert et al., 2001; Sousa et al., 2002). Dentre as tropicais, destacam-se *Araucaria angustifolia* (Sousa et al., 2002), *Genipa americana* (Sebbenn, 2004), *Esenbeckia leiocarpa* (Sebbenn & Sebbenn, 2004), *Trema micrantha* (Ribas & Sebbenn, 2004) e *Eremanthus erythropappus* (Moura, 2005). A ausência de indícios de heterogeneidade de segregação entre as progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno em *C. brasiliense* confirma a herança mendeliana simples para todos os locos.

4.2.7.2 Desequilíbrio de ligação

Os dados do teste de desequilíbrio gamético, baseado na medida composta de Burrows, mostraram que, das 66 combinações possíveis de pares de locos das progênies das populações de Mata Ciliar, apenas 9 apresentaram desequilíbrio de ligação no rio das Mortes (Tabela 13). Na amostragem realizada no rio Grande, o desequilíbrio foi presente em cinco combinações. Os resultados mostram que os alelos dos pares de locos em desequilíbrio de ligação estão associados e não segregam de maneira independente, de modo que um dos locos deve ser removido de análises que requeiram locos em equilíbrio gamético.

Tanto na população do rio das Mortes como na do rio Grande, grande parte das combinações possíveis de locos em desequilíbrio indicou a ocorrência de desequilíbrio genotípico com locos ligados em acoplamento. Nas plantas provenientes do rio das Mortes, apenas na combinação entre os locos ACP1/SKDH1, o desequilíbrio ocorreu nos locos ligados em repulsão e, nas do rio Grande, esse desequilíbrio foi detectado apenas na combinação GLDH1/GDH1.

TABELA 13. Valores da medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$), com respectivos testes de qui-quadrado (χ^2) e probabilidades associadas (P), para pares de locos isoenzimáticos que apresentaram desvios significativos da hipótese de desequilíbrio de ligação de populações de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em Mata Ciliar.

Rio das Mortes	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	P
Locos			
ADH1/GTDH1	0,1184	10,00	0,0016
ACP1/SKDH1	-0,1996	7,00	0,0082
GLDH1/GDH1	0,1596	4,15	0,0416
GLDH1/SDH1	0,2199	10,00	0,0016
GLDH1/SKDH1	0,2030	7,16	0,0075
GDH1/GTDH1	0,1596	4,15	0,0415
GDH1/SDH1	0,1596	4,15	0,0416
MDH1/SKDH1	0,2452	7,10	0,0077
SDH1/SKDH1	0,2030	7,16	0,0075
Rio Grande			
Locos			
ADH1/ β -EST2	0,1506	18,00	0,0000
α -EST1/MDH1	0,2220	9,00	0,0027
ACP2/SKDH1	0,1958	4,80	0,0285
GLDH1/GDH1	-0,2242	6,00	0,0143
GDH1/MDH1	0,1798	12,25	0,0005

4.2.7.3 Aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

A avaliação da existência do EHW nas populações de *C. brasiliense* do rio das Mortes e do rio Grande foi verificada nas árvores e nas progênies. Estas foram submetidas ao teste exato de Fisher, com o objetivo de avaliar se suas proporções genotípicas se ajustam ao modelo de EHW. A porcentagem de locos em EHW foi de 93% nas árvores amostradas no rio das Mortes e 57% nas amostradas no rio Grande (Tabela 14). Nas progênies da população do rio das Mortes, a porcentagem de locos em EHW foi de 83%, enquanto que, nas do rio Grande, foi de 92%.

Os locos α -EST1, β -EST2, ACP1, ACP2, GLDH1, GDH1, GTDH1, MDH1 e SDH1 demonstraram estar em EHW, tanto nos adultos como nas

progênies de *C. brasiliense* amostradas no rio das Mortes. Nas árvores amostradas no rio Grande, os locos ADH1, α -EST1, β -EST1, β -EST2, ACP2, GLDH1, GTDH1 e SDH1 demonstraram estar em EHW nos adultos e nas progênies. Apenas o loco SKDH1 mostrou desvio significativo do modelo para as duas gerações.

A alta aderência dos locos nas árvores de *C. brasiliense* amostradas no rio das Mortes e nas progênies nas duas populações está diretamente associada ao número de heterozigotos observados em relação ao número de heterozigotos esperados pelo modelo, indicando que essas populações foram geradas de cruzamentos aleatórios.

TABELA. 14. Probabilidades do teste exato de Fisher, para a hipótese do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, para a população de árvores reprodutivas e progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. no rio das Mortes e no rio Grande.

Locos polimórficos	P (Fisher)			
	Adultos		Progênies	
	Rio das Mortes	Rio Grande	Rio das Mortes	Rio Grande
ADH1	0,032*	0,994 ^{ns}	0,134 ^{ns}	0,610 ^{ns}
α -EST1	0,418 ^{ns}	0,088 ^{ns}	1,000 ^{ns}	0,687 ^{ns}
α -EST2	0,118 ^{ns}	0,021*	-	-
β -EST1	0,996 ^{ns}	0,198 ^{ns}	0,011*	0,066 ^{ns}
β -EST2	0,128 ^{ns}	0,386 ^{ns}	0,726 ^{ns}	0,947 ^{ns}
ACP1	0,763 ^{ns}	0,000**	0,110 ^{ns}	0,173 ^{ns}
ACP2	0,629 ^{ns}	0,288 ^{ns}	0,084 ^{ns}	0,211 ^{ns}
ACP3	0,064 ^{ns}	0,046*	-	-
GLDH1	0,128 ^{ns}	0,064 ^{ns}	0,955 ^{ns}	0,501 ^{ns}
GDH1	1,000 ^{ns}	0,003**	0,271 ^{ns}	0,241 ^{ns}
GTDH1	0,322 ^{ns}	0,945 ^{ns}	0,946 ^{ns}	0,412 ^{ns}
MDH1	0,061 ^{ns}	0,000**	1,000 ^{ns}	0,613 ^{ns}
SDH1	0,391 ^{ns}	0,952 ^{ns}	0,220 ^{ns}	0,075 ^{ns}
SKDH1	0,316 ^{ns}	0,014*	0,001**	0,001**

*P<0,05; **P<0,001; ^{ns} = não significativo

4.2.7.4 Homogeneidade das frequências de pólen e óvulos

O teste de qui-quadrado (χ^2) para a divergência genética entre as frequências alélicas dos óvulos e pólen para as populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar foi significativo em todos os locos, no rio das Mortes e em 92% dos locos no rio Grande (Tabela 15). Os dados revelam que a distribuição do pólen não foi homogênea para os cruzamentos individuais, indicando uma possível ocorrência de cruzamentos biparentais nessas populações.

Essa heterogeneidade detectada nas populações de *C. brasiliense* que ocorrem na Mata Ciliar vão contra uma das pressuposições do modelo de cruzamento misto de Ritland & Jain (1981), que considera que as frequências alélicas do óvulo e pólen sejam homogêneas (Ritland & Jain, 1981). Segundo Gusson (2003), desvios detectados nas frequências de óvulos e pólen podem auxiliar no entendimento de fatores importantes no processo de reprodução. Para Lee et al. (2000), a presença de pólen proveniente de outras populações, a seleção entre o tempo de polinização e análise de progênies, a não ocorrência de cruzamentos aleatórios e a amostragem não representativa das árvores maternas também são fatores que levam à heterogeneidade nas frequências alélicas dos conjuntos gênicos materno e paterno.

A divergência genética (\hat{F}_{ST}) nas frequências alélicas dos adultos vs. progênies foi detectada em alguns locos nas populações de *C. brasiliense* amostradas na Mata Ciliar. Na população amostrada no rio das Mortes, 50% dos locos apresentaram desvios significativos e, na amostrada no rio Grande, este fato ocorreu em 66% dos locos (Tabela 16).

Essa divergência observada nos locos sugere a ocorrência de alterações nas frequências alélicas entre as duas gerações, devido à atuação de forças evolucionárias. Como os marcadores isoenzimáticos possuem natureza supostamente neutra, excluindo, assim, fatores evolutivos, como seleção, os

desvios detectados podem ser atribuídos a fatores como a deriva genética e ou ao sistema de reprodução. O sistema de reprodução pode ter sido o principal responsável pela ocorrência dos desvios, visto que as maiores alterações foram observadas nas frequências genotípicas, como evidenciado pela redução dos valores do índice de fixação nas progênies e não pelas alterações nas frequências alélicas entre as gerações, apesar de alguns locos presentes nas árvores adultas não terem sido detectados nas progênies.

Segundo Souza et al. (2003), o sistema de reprodução não altera as frequências alélicas, mas apenas as frequências genotípicas por erros de amostragem. Já a deriva genética pode alterar tanto as frequências alélicas como a genotípica. A comparação entre as frequências alélicas das árvores adultas vs. pólen e adultos vs. óvulos revelou divergências genéticas baixas (máxima de 0,0676) na população amostrada no rio das Mortes. Na população de *C. brasiliense* amostrada no rio Grande, as mesmas comparações revelaram também baixas divergências para a maioria dos locos, com exceção dos locos ADH1, ACP2 e GDH1, que apresentaram valores de \hat{F}_{ST} de 0,1350, 0,1298 e 0,1603, respectivamente.

Esses resultados mostram que as dezenove árvores amostradas no rio das Mortes e as sete amostradas no rio Grande não foram suficientes para representar as árvores adultas, em termos de frequências alélicas. A heterogeneidade detectada nas frequências alélicas dos adultos vs. pólen foi de 50% na população amostrada no rio das Mortes e 58% na amostrada no rio Grande, indicando que as frequências alélicas do pólen efetivamente cruzado e das matrizes que deram origem às progênies não eram perfeitamente representativas das populações.

TABELA 15. Divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre as frequências alélicas de pólen e óvulos de progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. do Rio das Mortes e Rio Grande.

Loco	Rio das Mortes							Rio Grande						
	Alelo	Pólen	Óvulos	\hat{F}_{ST}	n	X^2	GL	Pólen	Óvulos	\hat{F}_{ST}	n	X^2	GL	
ADH1	1	0,503	0,417					0,405	0,500					
	2	0,497	0,583	0,0929	108	20,06**	1	0,595	0,500	0,0896	61	10,93**	1	
α -EST1	1	0,586	0,458					0,537	0,500					
	2	0,414	0,542	0,0829	109	18,07**	1	0,463	0,500	0,1210	61	14,76**	1	
β -EST1	1	0,515	0,333					0,410	0,429					
	2	0,485	0,667	0,0478	109	10,42**	1	0,590	0,571	0,0509	62	6,31*	1	
β -EST2	1	0,503	0,500					0,650	0,357					
	2	0,497	0,500	0,1225	107	26,21**	1	0,350	0,643	0,0733	62	9,08**	1	
ACPI	1	0,514	0,542					0,488	0,286					
	2	0,486	0,458	0,1100	108	23,76**	1	0,512	0,714	0,0393	62	7,87**	1	
ACP2	1	0,468	0,667					0,500	0,714					
	2	0,532	0,333	0,0917	107	19,62**	1	0,500	0,286	0,0335	61	4,08*	1	
GLDH1	1	0,333	0,375					0,500	0,429					
	2	0,667	0,625	0,0776	106	16,45**	1	0,500	0,571	0,0484	53	5,13*	1	
GDH1	1	0,471	0,375					0,551	0,214					
	2	0,529	0,625	0,0222	108	4,79*	1	0,449	0,786	0,0891	62	11,04**	1	
GTDH1	1	0,370	0,417					0,500	0,571					
	2	0,630	0,583	0,0744	105	15,62**	1	0,500	0,429	0,0177	61	2,15	1	
MDH1	1	0,480	0,417					0,412	0,500					
	2	0,520	0,583	0,0404	106	8,56**	1	0,588	0,500	0,0754	62	9,34**	1	
SDH1	1	0,425	0,458					0,400	0,429					
	2	0,575	0,542	0,1401	106	29,70**	1	0,600	0,571	0,0860	62	10,66**	1	
SKDH1	1	0,376	0,500					0,458	0,429					
	2	0,624	0,500	0,0904	105	18,98**	1	0,542	0,571	0,0447	57	5,09*	1	

n = tamanho amostral; (*): $P \leq 0,05$, (**): $P \leq 0,01$.

Esses dados permitem supor que a diferença observada pode ter sido gerada por cruzamento entre parentes, cruzamentos biparentais e ou pólen de outras populações e amostragem não representativa das árvores maternas nas populações.

TABELA 16 - Divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre as frequências alélicas dos adultos vs. progênies, adultos vs. pólen e adultos vs. óvulos de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Loco	\hat{F}_{ST}					
	Rio das Mortes			Rio Grande		
	Adultos vs progênies	Adultos vs pólen	Adultos vs óvulos	Adultos vs progênies	Adultos vs pólen	Adultos vs óvulos
ADH1	0,0119*	0,0249*	0,0052	0,1261**	0,1350**	0,0768**
α -EST1	0,0031	0,0142*	0,0002	0,0017	0,0021	0,0069
β -EST1	0,0013	0,0219*	0,0013	0,0050	0,0038	0,0066
β -EST2	0,0028	0,0041	0,0045	0,0154*	0,0588**	0,0028
ACP1	0,0016	0,0017	0,0002	0,0242*	0,0021	0,0636**
ACP2	0,0104*	0,0005	0,0318*	0,0593**	0,1298**	0,0225*
GLDH1	0,0112*	0,0106*	0,0035	0,0432*	0,0230*	0,0491**
GDH1	0,0105*	0,0008	0,0159*	0,0561**	0,0033	0,1603**
GTDH1	0,0004	0,0005	0,0006	0,0676**	0,0989**	0,0608**
MDH1	0,0037	0,0096	0,0012	0,0219*	0,0353*	0,0101*
SDH1	0,0124*	0,0116*	0,0197*	0,0083	0,0110*	0,0180*
SKDH1	0,0494*	0,0676**	0,0188*	0,0016	0,0025	0,0005

*: $P \leq 0,05$. **: $P \leq 0,01$.

4.2.7.5 Taxas de cruzamento multilocos e unilocos

As taxas de cruzamento foram avaliadas em cada uma das populações de Mata Ciliar de *C. brasiliense* e suas respectivas estimativas são apresentadas na Tabela 17.

TABELA 17. Estimativa dos parâmetros do sistema de reprodução de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata Ciliar.

Parâmetros	Populações	
	Rio das Mortes	Rio Grande
Taxa de cruzamento multilocos (\hat{t}_m)	0,993 (0,020)	1,000 (0,000)
Taxa de cruzamento unilocos (\hat{t}_s)	0,979 (0,002)	0,970 (0,003)
Taxa de cruzamento entre aparentados ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$)	0,014 (0,012)	0,030 (0,003)
Correlação de autofecundação (\hat{r}_s)	0,098 (0,012)	0,109 (0,001)
Correlação de paternidade (\hat{r}_p)	0,507 (0,079)	0,594 (0,100)
Nº médio de árvores doadoras de pólen ($1/\hat{r}_p$)	1,97	1,68
Proporção de irmãos de autofecundação (\hat{P}_{IA})	0,7%	0,0%
Proporção de irmãos completos (\hat{P}_{IC})	50,3%	59,4%
Proporção de meios-irmãos (\hat{P}_{MI})	48,9%	40,6%
Índice de fixação nas árvores maternas (\hat{F}_m)	0,000	0,000
Índice de fixação nas árvores adultas (\hat{F}_a)	-0,023 [-0,199;0,071]	0,262 [0,145;0,378]
Índice de fixação nas progênies (\hat{F}_p)	-0,031 [-0,112; 0,064]	0,023 [-0,08;0,143]
Coancestria dentro de progênies ($\hat{\theta}_{xy}$)	0,182	0,203
Tamanho efetivo de variância ($\hat{N}_{e(v)}$)	2,36	2,13
Tamanho efetivo de variância total ($\hat{N}_{e(v)t}$)	28,32	14,91
Número de matrizes para reter $\hat{N}_e = 150$ (\hat{m})	64	71
Número total de árvores matrizes (m)	12	7
Número total de progênies (n)	120	70

[] Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 10.000 reamostragens (*bootstrap*) sobre locos.

() Erro padrão da média obtido por 1.000 reamostragens (*bootstrap*).

Os valores encontrados demonstram que, na população de *C. brasiliense* amostrada no rio das Mortes, 99,3% das plantas eram provenientes de cruzamentos, sendo 97,9% entre árvores não aparentadas e 1,4% entre árvores aparentadas. Na população amostrada no rio Grande, todas as plântulas foram provenientes de cruzamentos, sendo 97% entre árvores não aparentadas e 3% entre árvores aparentadas.

As altas taxas de cruzamento encontradas para as populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata Ciliar reforçam a hipótese de que os desvios ao EHW encontrados são provenientes de fatores evolutivos, como deriva genética e migração. Os altos valores encontrados para a taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m), para as duas populações, não foram estatisticamente diferentes de 1,0 (0,993±0,020 e 1,00), mostrando que a espécie se reproduz por cruzamento com predominância de alogamia.

Altas taxas de cruzamento também foram encontradas para outras espécies arbóreas tropicais, como *Trema micrantha* (L.) B., *Cecropia pachystachya* Trec., *Cedrela fissilis* Vell., *Cariniana legalis* Mart. e *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Kageyama et al., 2003b). A taxa de cruzamento unilocos (\hat{t}_s) foi alta nas duas populações e significativamente diferente da unidade (0,979±0,002; 0,970±0,003), mas inferior à estimativa da taxa de cruzamentos multilocos. Isso confirma que *C. brasiliense* é de sistema misto predominantemente de cruzamento, com pouca possibilidade de ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados na população.

A correlação na estimativa de $t(\hat{r}_s)$, ou a probabilidade de se encontrar um indivíduo gerado por autofecundação em uma progênie onde existe outro também gerado por autofecundação, foi baixa nas duas populações (0,098±0,02; 0,109±0,001), mostrando uma baixa probabilidade de certas árvores deixarem mais descendentes por autofecundação, sendo os indivíduos de

autofecundação distribuídos aleatoriamente entre as progênies. A correlação da estimativa de p (\hat{r}_p) ou a probabilidade de se encontrar indivíduos irmãos-completos no conjunto das progênies de cruzamento foi de 0,507, na população amostrada no rio das Mortes e de 0,594 na amostrada no rio Grande, porém, não significativas, sugerindo a presença de cruzamentos preferenciais.

Isso indica que grande parte das progênies de cruzamentos foi gerada por cruzamentos biparentais, ou seja, geradas pelo mesmo parental materno e paterno. Vários autores também evidenciaram altas taxas de estimativa \hat{r}_p , como, por exemplo, Sebbenn et al. (2001), que detectaram um \hat{r}_p de 0,547 em uma população natural de *Tabebuia cassinoides* (Lam.) e Souza et al. (2003), que encontraram uma correlação de \hat{r}_p de 0,875 em *Chorisia speciosa* St. Hil.

Segundo Sun & Ritland (1998), os cruzamentos biparentais podem ser atribuídos a diversos fatores, como o comportamento dos polinizadores visitando de forma sistemática árvores próximas, a poliandria ou o depósito de múltiplos grãos de pólen de um simples polinizador, e ao pequeno número de vizinhos próximos ou ao assincronismo no florescimento das árvores. Assim, um destes fatores pode ter contribuído para a alta taxa de cruzamento biparental observada nestas duas populações.

A média do número provável de indivíduos que contribuíram com pólen no evento de reprodução de uma árvore-mãe foi estimada a partir da correlação de paternidade. Os números de indivíduos polinizadores efetivos foram de, aproximadamente, dois indivíduos por árvore, semelhante ao encontrado para outras espécies arbóreas, como *Teobroma grandiflorum* (Alves et al., 2003), *Myracrodruon urundeuva* (Moraes et al., 2003) e *Picea mariana* (Perry & Bosquet, 2001).

Combinando-se a taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m) com a correlação de paternidade (\hat{r}_p), verifica-se que, para a população amostrada no rio das Mortes, 0,7% das progênies analisadas foram originadas de autofecundação. Sendo $(1 - \hat{t}_m)$ a relação de parentesco de autofecundação, 50,3% foram originadas por cruzamentos biparentais ($\hat{t}_m \times \hat{r}_p$), sendo aparentadas no grau de irmãos completos e 48,9% por cruzamentos aleatórios [$\hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$], portanto, aparentadas no grau de meios-irmãos.

Na população amostrada no rio Grande, as progênies não foram originadas por autofecundação, porém, 59,4% foram originadas por cruzamentos biparentais aparentadas no grau de irmãos-completos e 40,6% por cruzamentos aleatórios aparentadas no grau de meios-irmãos. Estes valores mostram que as progênies de *C. brasiliense* amostradas no rio das Mortes são formadas de meios-irmãos e irmãos-completos e as amostradas no rio Grande são, na maioria, irmãos-completos.

O valor estimado para o coeficiente de coancestralidade dentro das progênies ($\hat{\theta}_{xy}$) foi de 0,182, na população amostrada no rio das Mortes e 0,203 para a amostrada no rio Grande. Nas duas populações, os valores foram 45% e 62% superiores ao esperado em progênies de meios-irmãos (0,125). A maior coancestria detectada na população amostrada no rio das Mortes pode ser atribuída à maior correlação de paternidade, ou seja, maior proporção de cruzamentos biparentais, sendo a maioria das progênies geradas aparentada no grau de irmãos-completos.

Nos programas de melhoramento, os modelos clássicos de genética quantitativa pressupõem que progênies de polinização aberta são compostas, exclusivamente, por meios-irmãos, no caso de espécies alógamas. Assim, os valores encontrados para *C. brasiliense* mostram a ocorrência de uma possível

superestimativa, caso parâmetros genéticos venham a ser estimados. Trabalhos como o de Gusson (2003) e Moura (2005) discutem a importância do coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) nos programas de melhoramento e conservação genética, principalmente na estimativa do coeficiente de correlação de parentesco (r_{xy}), entre plantas dentro de progênies e tamanho efetivo de variância.

O tamanho efetivo de vizinhança ($\hat{N}_{e(v)}$), que é uma medida, em termos de deriva genética, da representatividade genética de uma amostra de progênies retirada de uma população ideal, foi de 2,36 para a população do rio das Mortes e 2,13 para a população do rio Grande. Considerando que, para espécies alógamas com população idealizada (tamanho infinito, cruzamentos aleatórios e ausência de seleção, migração e mutação), o valor teórico máximo esperado do tamanho efetivo de uma simples progênie é em torno de 4 (Gusson, 2003; Sebbenn, 1997), os valores estimados para *C. brasiliense* foram 41% e 46% menores dos que os esperados, para as populações do rio das Mortes e do rio Grande, respectivamente.

A taxa de cruzamento individual por árvore materna (t) foi alta para grande parte dos cruzamentos, não variando dentro das populações de Mata Ciliar (Tabela 18). A taxa de fecundação de cada família variou de 0,66 a 1,00, na população amostrada no rio das Mortes e de 0,9 a 1,00 na amostrada no rio Grande. Na população de *C. brasiliense* amostrada no rio das Mortes, três das doze progênies apresentaram valores inferiores a 1,0, sendo estes estatisticamente menores que 1,0. Na população amostrada no rio Grande, duas progênies apresentaram valores inferiores a 1,0, mas, apenas uma progênie apresentou valor estatisticamente menor que 1,0.

TABELA 18 – Taxa de cruzamento, por progênie (t), taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m), unilocos (\hat{t}_s), correlação de autofecundação (\hat{r}_s) e correlação de paternidade (\hat{r}_p) do rio das Mortes e do rio Grande.

Progênie	T	\hat{t}_m	\hat{t}_s	$\hat{t}_m - \hat{t}_s$	\hat{r}_s	\hat{r}_p
Rio das Mortes						
01	1,00(0,00)					
02	1,00(0,00)					
03	1,00(0,00)					
04	0,90(0,09)					
05	1,00(0,00)					
06	1,00(0,00)					
07	1,00(0,00)					
08	1,00(0,00)					
09	1,00(0,00)					
10	1,00(0,00)					
11	0,66(0,17)					
12	0,84(0,14)					
Média	-	0,993 (0,020)	0,979 (0,002)	0,014 (0,012)	0,098 (0,012)	0,507 (0,079)
Rio Grande						
01	0,95(0,15)					
02	1,00(0,00)					
03	1,00(0,00)					
04	1,00(0,00)					
05	0,90(0,09)					
06	1,00(0,00)					
07	1,00(0,00)					
Média	-	1,000 (0,00)	0,970 (0,003)	0,030 (0,003)	0,109 (0,001)	0,594 (0,100)

(): erro padrão da média

4.3 Floresta Paludosa

4.3.1 Freqüências alélicas

Os dados das freqüências alélicas das árvores de *C. brasiliense* amostradas em áreas de Floresta Paludosa são apresentadas na Tabela 19.

TABELA 19. Freqüências alélicas e tamanho da amostra (n) de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Loco	Alelos	Adultos	
		Lavras	Itumirim
ADH1	1	0,276	0,258
	2	0,724	0,742
	N	60	60
α -EST1	1	0,472	0,275
	2	0,528	0,725
	N	54	60
α -EST2	1	0,491	0,658
	2	0,509	0,342
	N	54	60
β -EST1	1	0,713	0,325
	2	0,287	0,675
	N	54	60
β -EST2	1	0,629	0,475
	2	0,371	0,525
	N	58	60
ACP1	1	0,583	0,616
	2	0,417	0,384
	N	60	56
ACP2	1	0,875	0,731
	2	0,125	0,269
	N	60	54
ACP3	1	0,867	0,191
	2	0,133	0,809
	N	60	57

“... continua ...”

Tabela 19 Cont.”

GLDH1	1	0,250	0,400
	2	0,750	0,600
	N	60	60
GDH1	1	0,250	0,400
	2	0,750	0,600
	N	60	60
GTDH1	1	0,263	0,367
	2	0,737	0,633
	N	60	60
MDH1	1	0,300	0,583
	2	0,700	0,417
	N	60	60
SDH1	1	0,258	0,408
	2	0,742	0,592
	N	60	60
SKDH1	1	0,449	0,375
	2	0,551	0,625
	N	60	60

n = número de árvores amostradas

A análise das freqüências alélicas das populações de *C. brasiliense* amostradas em Floresta Paludosa mostra a segregação de dois alelos, não sendo detectadas a perda ou a fixação de alelos em nenhum dos locos analisados. Entretanto, a distribuição das freqüências alélicas apresenta uma variação entre os locos nas populações, por exemplo, loco α -EST2, β -EST1, MDH1, entre outros.

O alelo 2 apresentou-se em maiores freqüências em 50% dos locos (ADH1, α -EST1, GLDH1, GDH1, GTDH1, SDH1 e SKDH1), nas duas populações, evidenciando um possível equilíbrio na distribuição das freqüências alélicas.

Na população de *C. brasiliense*, amostrada em Lavras, 71% dos locos (ADH1, β -EST1, β -EST2, ACP2, ACP3, GLDH1, GDH1, GTDH1, MDH1, SDH1) apresentaram alterações na distribuição de suas freqüências alélicas, ou

seja, ausência de equidade gênica; em Itumirim, foi de, aproximadamente, 78% dos locos (ADH1, α -EST1, α -EST2, β -EST1, ACP1, ACP2, ACP3, GLDH1, GDH1, GTDH1, SKDH1). Esta proporção de locos com alterações nas frequências alélicas indicam que as árvores amostradas neste hábitat podem estar susceptíveis à fixação ou à perda de alelos, o que pode comprometer a diversidade genética de *C. brasiliense* nestes locais. Assim, estes valores podem ser indicativos de baixa diversidade genética nestas populações, fazendo com que estas sejam mais susceptíveis à deriva genética.

De acordo com Frankel et al. (1996), a equidade gênica é caracterizada pela menor variação das frequências alélicas numa espécie, sendo, então, um indicativo de maior diversidade genética. Dessa forma, espécies que apresentam menor variação das frequências alélicas ou maior equidade gênica podem manter as populações menos susceptíveis à fixação e à perda de alelos, quando submetidas a perturbações e a gargalos genéticos. Assim, populações com maior diversidade genética estariam mais protegidas dos efeitos de deriva do que as que têm alelos em baixa frequência (baixa equidade gênica), estando estes susceptíveis à perda.

4.3.2 Índices de diversidade genética

Tendo como referência as frequências alélicas dos 14 locos polimórficos obtidos, foram estimados os índices de diversidade genética para as populações de *C. brasiliense* amostradas em áreas de Floresta Paludosa (Tabela 20).

As populações apresentaram 100% de polimorfismo. O número de alelos por loco foi 2,0, valor próximo aos encontrados para outras espécies arbóreas utilizando marcadores isoenzimáticos (Lacerda, 1999; Souza et al., 2004; Telles, 2003; Vieira, 2005).

TABELA 20. Variabilidade genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Índices de diversidade	Populações de Floresta Paludosa	
	Lavras	Itumirim
Porcentagem de locos polimórficos (0,99)	100	100
Número médio de alelos por loco	2,00	2,00
Heterozigosidade observada (\hat{H}_o)	0,383 (0,027)	0,386 (0,024)
Heterozigosidade esperada (\hat{H}_e)	0,406 (0,024)	0,447 (0,014)
Índice de fixação (\hat{f})	0,057 [-0,075;0,017]	0,137* [0,021;0,247]
Tamanho da amostra (n)	60	60

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança; * = significativo a 5% de probabilidade

Nas populações de *C. brasiliense*, amostradas em Floresta Paludosa, a heterozigosidade observada (\hat{H}_o) foi menor que a esperada (\hat{H}_e). Em Lavras, \hat{H}_o foi 0,383 e \hat{H}_e 0,406 e em Itumirim, \hat{H}_o foi 0,386 e \hat{H}_e 0,447. O índice de fixação (\hat{f}) foi positivo e, na população amostrada em Itumirim, foi significativo, evidenciando que as frequências genotípicas observadas desviam-se das frequências esperadas, segundo os pressupostos do EHW.

Souza et al. (2004), estudando populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil., também encontraram valores de \hat{H}_o inferiores a \hat{H}_e . Sebbenn et al. (2000b), estudando populações de *Tabebuia cassinoides* encontraram 0,314 e 0,266 para \hat{H}_e e 0,266 e 0,174 para \hat{H}_o . Sebbenn (2001) encontrou valores de \hat{H}_e variando de 0,348 a 0,350 e de \hat{H}_o de 0,263 a 0,287, para *Cariniana legalis*. Gusson et al. (2005), em *Eschweilera ovata*, encontraram 0,400 e 0,431 para \hat{H}_e e 0,389 e 0,388 para \hat{H}_o .

Como as áreas amostradas em Floresta Paludosa são representadas por pequenos remanescentes ou fragmentos, mantendo, assim, suas populações mais isoladas, o cruzamento entre árvores próximas é maior e, como consequência,

pode haver uma redução nos valores de heterozigosidade. Segundo Barret & Kohn (1991), a perda de variação genética devido à fragmentação pode ocorrer por duas vias: i) a redução no tamanho populacional cria gargalos genéticos, dado que os indivíduos remanescentes contêm apenas uma pequena amostra do conjunto gênico original e ii) como conseqüência, a perda de alelos devido à deriva genética.

Nei (1975) considera que a redução da heterozigosidade média por loco não depende apenas do tamanho do gargalo, mas também da taxa de cruzamento e de crescimento da população. Assim, caso a população cresça rapidamente, a redução da heterozigosidade é mínima, mesmo que o número de fundadores seja pequeno.

Apesar das populações estarem inseridas numa matriz vegetacional semelhante, cercadas por áreas de agricultura ou pastagem, a presença de água em pequenos canais no interior dos fragmentos é bastante variável. Assim, devido ao fato de *C. brasiliense* ter preferência por locais de alta saturação hídrica e umidade, as suas populações, nessas áreas, podem apresentar uma estrutura familiar, o que influenciaria diretamente a distribuição dos genótipos, tendo conseqüências na distribuição da sua variabilidade.

4.3.3 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade para as árvores de *C. brasiliense*, amostradas em áreas de Floresta Paludosa, são apresentados na Tabela 21.

Os valores das estimativas de endogamia das populações (\hat{f}) e do conjunto das populações (\hat{F}) foram positivos nas duas populações, 0,060 e 0,185, indicando a ocorrência de cruzamentos entre árvores aparentadas. Nas árvores de *C. brasiliense* amostradas em Itumirim, a endogamia para o conjunto das populações (\hat{F}) foi maior e significativa, confirmando a existência de cruzamentos endogâmicos.

TABELA 21. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}), da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) e diferenciação genética de Gregorius (\hat{D}_G) de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Populações de estudo	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	\hat{D}_G
Floresta	0,060	0,185*	0,133*	0,192
Paludosa	[-0,032;0,157]	[0,064;0,296]	[0,073;0,213]	
Lavras	0,019	0,092	0,074*	0,121
	[-0,111;0,141]	[-0,049;0,214]	[0,014;0,135]	
Itumirim	0,098	0,172*	0,081*	0,188
	[-0,013;0,210]	[0,049;0,282]	[0,035;0,128]	

[]= intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%)

* = significativo, a 5% de probabilidade

Os resultados confirmam a ocorrência do maior número de homozigotos nestes fragmentos, contribuindo para o aumento da taxa de endogamia nestas populações. Valores positivos \hat{f} e \hat{F} foram também encontrados para outras espécies arbóreas tropicais, como *Cariania legalis*, *Maytenus aquifolia* e *Esenbeckia leiocarpa* (Kageyama et al., 2003), *Tabebuia cassinoides* (Sebbenn et al., 2001) e *Chorisia speciosa* (Souza et al., 2004). De acordo com os últimos autores, o índice \hat{f} é função dos efeitos dos desvios de cruzamentos aleatórios dentro das populações e o índice \hat{F} dos efeitos combinados de desvios de cruzamentos aleatórios no conjunto das populações e da deriva genética causada pela subdivisão da espécie em populações. Assim, qualquer população de tamanho finito torna-se mais endogâmica com o tempo, pelo aumento dos cruzamentos entre parentes com o passar das gerações. Entretanto, o cruzamento entre indivíduos aparentados não altera as frequências alélicas, mas aumenta a frequência dos genótipos homozigotos.

Dessa forma, os valores das estimativas de endogamia encontrados nas populações de Floresta Paludosa reforçam a hipótese de deriva genética, bem como os efeitos da redução das populações naturais presentes nestes habitats.

A estimativa de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) entre as populações de *C. brasiliense* amostradas em Floresta Paludosa foi de 0,133, indicando que maior parte da variabilidade genética (86,7%) encontra-se dentro das populações. A medida de diferenciação genética de Gregorius mostrou que 19,2% da diversidade genética encontra-se entre as populações e 80,8% dentro. A divergência genética encontrada está de acordo com o observado para outras espécies arbóreas tropicais, ou seja, maior proporção da variabilidade genética encontra-se dentro das populações, no entanto, com uma proporção de variabilidade genética entre relativamente superior ao encontrado para *Protium spruceanum*, 3% (Vieira, 2005); *Cecropia pachystachya*, 2,6% (Kageyama et al., (2003b); *Cryptocarya moschata*, 11,4% (Moraes et al., 1999); *Pithecellobium elegans*, 10% (Hall et al., 1996) e *Acer saccharum*, 1,7% (Young et al., 1993).

4.3.4 Fluxo gênico

A estimativa de fluxo gênico foi relativamente baixa entre as populações de *C. brasiliense* amostradas em Floresta Paludosa, cerca de 0,2 migrantes por geração, demonstrando que o fluxo gênico não é suficiente para evitar os efeitos da deriva genética e que a divergência genética é alta entre as populações (Tabela 22). Na população amostrada em Lavras, o número de migrantes foi de aproximadamente 0,4 e, na amostrada em Itumirim, 0,2. Estes valores indicam que as árvores de *C. brasiliense* dos fragmentos de Lavras apresentam menor divergência genética entre si. Provavelmente, este fato se deve à proximidade destes fragmentos (620 m) e também a sua localização na matriz vegetacional, ou seja, proximidade a outras áreas doadoras de alelos.

Na população de Itumirim, como os fragmentos estão distanciados a, aproximadamente, 1.700 m e, por não estarem inseridos numa matriz vegetacional que favoreça a movimentação de alelos, o número de migrantes foi menor (0,2). Vieira (2005), estudando populações naturais de *Protium spruceanum* em área fragmentada, também evidenciou maior ocorrência de número de migrantes entre fragmentos mais próximos. Valores de \hat{Nm} relativamente baixos também foram encontrados em populações fragmentadas de *Pithecellobium elegans*, 0,70 (Hall et al. (1996) e *Chorisia speciosa*, 0,37 (Souza et al., 2004).

TABELA 22. Fluxo gênico (\hat{Nm}) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Populações de estudo	N	\hat{Nm}	\hat{N}_b
Floresta Paludosa	120	0,263	1,65
Lavras	60	0,454	2,85
Itumirim	60	0,269	1,69

N = número de indivíduos amostrados

Como a espécie *C. brasiliense* se desenvolve bem em ambientes úmidos e em solos com alta saturação hídrica, observou-se que, em Lavras e em Itumirim, suas populações são restritas a poucas áreas, principalmente em virtude da fragmentação. Portanto, existe uma redução no tamanho de suas populações, tendo como consequência o cruzamento entre indivíduos próximos, levando à perda de variabilidade genética. Como *C. brasiliense* possui diferentes mecanismos de dispersão e nas áreas de Floresta Paludosa parece predominar a dispersão barocórica e a zoocórica, principalmente por roedores, provavelmente, a dispersão ocorre de forma mais concentrada dentro dos fragmentos, fazendo com que a diversidade genética das árvores seja maior dentro das populações, quando comparadas com outros habitats de ocorrência da espécie.

A estimativa do número de genitores que trocam alelos ao acaso ou vizinhança (\hat{N}_b) foi de, aproximadamente, três indivíduos para a população amostrada em Lavras e dois para a amostrada em Itumirim. Segundo Slatkin & Barton (1989), os valores de \hat{N}_m e \hat{N}_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir divergência genética substancial entre locais. Numa mesma unidade de área, a redução neste número de indivíduos pode levar a alterações na estrutura genética das populações em médio prazo, aumentando a divergência entre as vizinhanças, devido ao aumento interno dos níveis de endogamia. No entanto, se estes valores forem superiores a um, o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir diferenciação devido à deriva genética.

Os resultados encontrados nas populações de *C. brasiliense*, amostradas nas áreas de Floresta Paludosa, mostram que a fragmentação pode levar estas populações a sofrerem mais com os efeitos da deriva genética e também aumentar a divergência genética delas.

4.3.5 Distribuição espacial dos genótipos

A distribuição espacial das árvores de *C. brasiliense*, amostradas nos fragmentos de Floresta Paludosa, encontra-se na Figura 4.

O padrão da distribuição espacial das árvores mostrou-se variável entre os locais amostrados. No fragmento I, de Lavras, as árvores encontram-se mais espaçadas, enquanto que, no fragmento II, estão localizadas na parte central deste.

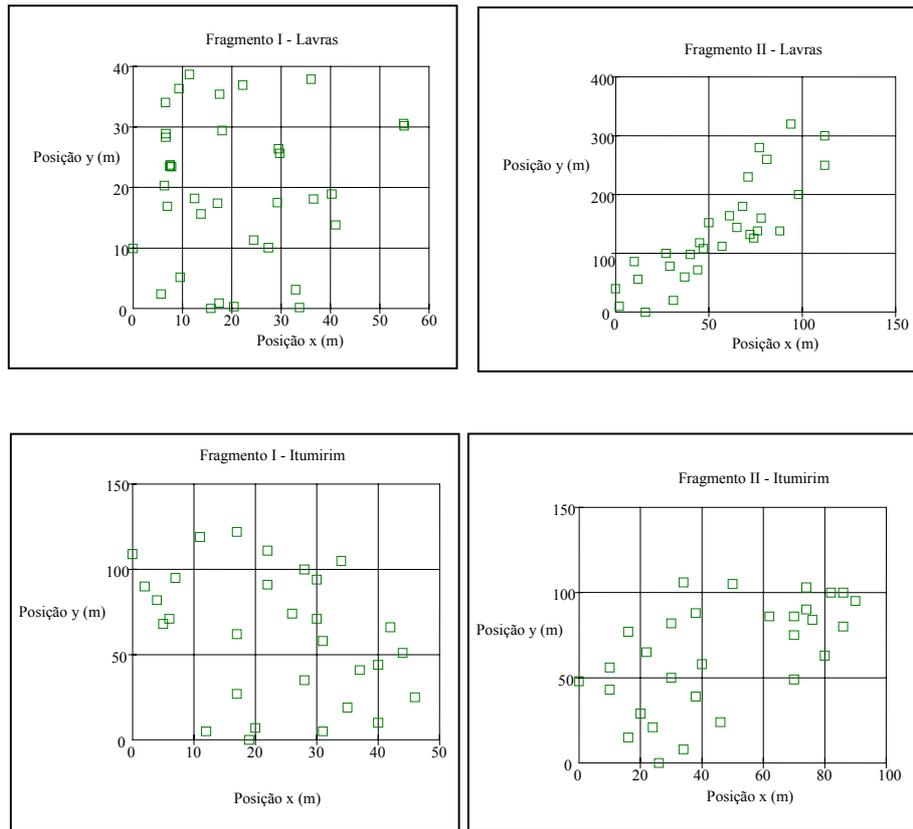


FIGURA 4. Posição e distribuição espacial de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Os fragmentos destacam-se por possuírem solo permanentemente encharcado no seu interior e fluxo constante de água superficial dentro de pequenos canais. Entretanto, no fragmento I de Lavras, a área de solo encharcado é maior, não restringindo-se apenas às proximidades aos canais de fluxo de água. Assim, a umidade é distribuída mais uniformemente, fazendo com que as árvores de *C. brasiliense* ocorram distribuídas aleatoriamente. No fragmento II, predomina a formação de fluxo de água com escoamento em pequenos canais em seu interior, portanto, a umidade concentra-se na parte central, de modo que as árvores se agrupam próximo a estes canais. Nos fragmentos de Itumirim, as árvores de *C. brasiliense* ocorrem mais espaçadas. Nos fragmentos I e II, como a presença de solo encharcado e a alta umidade não ficam restritos apenas ao interior do fragmento, as árvores são distribuídas aleatoriamente dentro dos mesmos.

Os padrões de distribuição de *C. brasiliense* evidenciam que sua colonização e perpetuação nos fragmentos de florestas paludosa são fortemente influenciadas pela sua preferência por solos com alta saturação hídrica e umidade, característica que lhe confere ser uma espécie especialista em hábitat.

Os correlogramas ilustrando a distribuição espacial dos genótipos nas populações de *C. brasiliense*, amostradas nos fragmentos de Floresta Paludosa, são apresentados na Figura 5.

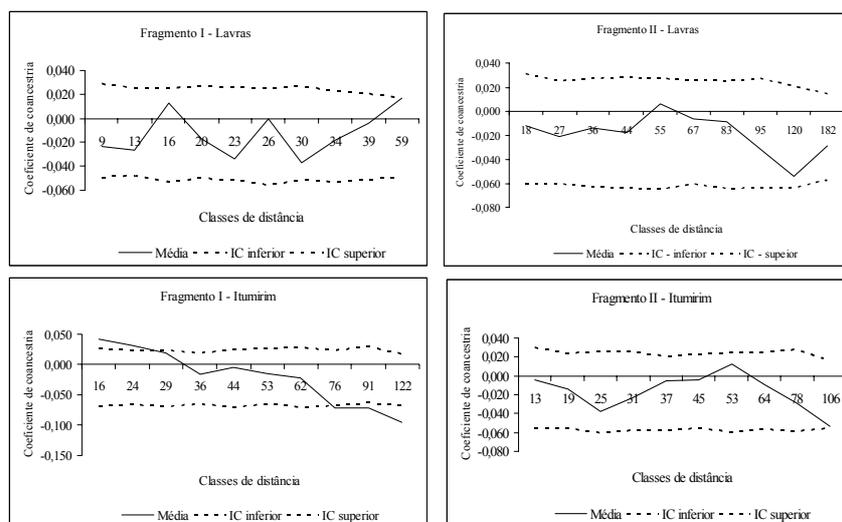


FIGURA 5. Correlograma para o coeficiente de coancestria para classes de distância de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em fragmentos de Floresta Paludosa.

Nos fragmentos I de Lavras e de Itumirim, as árvores mais próximas espacialmente apresentam maior valor de coancestria do que as mais distantes. Valores positivos e significativos de coancestria foram detectados entre pares de árvores até a uma distância de, aproximadamente, 39 m no fragmento I, de Lavras e 24 m no fragmento I, de Itumirim. A presença de coancestria em árvores adultas de *C. brasiliense* nestes fragmentos pode estar ligada a alelos específicos que, de certa forma, garantam a funcionalidade da espécie a determinados fatores ambientais.

Segundo Kimura (1982), mesmo sendo neutros, os alelos equivalentes à funcionalidade da espécie para um grupo de condições ambientais, é possível que alguns deles tenham um potencial latente para a seleção. Assim, se a seleção estiver atuando em algum alelo específico, é provável que a sua ocorrência seja restrita a poucos indivíduos, o que estaria levando a uma possível estruturação genética nos adultos.

4.3.6 Tamanho efetivo

As estimativas de tamanho efetivo (\hat{N}_e) para as árvores de *C. brasiliense*, amostradas em fragmentos de Floresta Paludosa, encontram-se na Tabela 23.

As estimativas do tamanho efetivo (\hat{N}_e) indicam a existência de um elevado grau de parentesco entre as árvores de *C. brasiliense* nas populações de Floresta Paludosa. O número amostral de 60 árvores foi superior aos valores encontrados para a população de Lavras e Itumirim, 59 e 55 árvores, respectivamente. Para o conjunto das populações, o número amostral de 120 árvores foi também superior ao encontrado, que foi 113.

TABELA 23. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (n) e a população mínima viável (PMV) para populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Floresta Paludosa.

Populações	\hat{N}_e	n	\hat{N}_e/n	150*	1.500*
				PMV	PMV
Lavras	59	60	0,983	153	1.526
Itumirim	55	60	0,916	164	1.638
Floresta Paludosa	113	120	0,941	159	1.594

* Tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e(referência)}$): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

O número mínimo para assegurar a manutenção dos níveis de variabilidade genética destas populações a curto prazo foi de 153 árvores na população amostrada em Lavras, de 164 para a amostrada em Itumirim e de 159 para o hábitat de Floresta Paludosa; já para a conservação *in situ* a longo prazo, foi de 1.526 árvores para Lavras, de 1.638 para Itumirim e de 1.594 para o hábitat. Os números mostram que, nesse hábitat, a conservação a longo prazo de *C. brasiliense* pode estar comprometida, pois o número de indivíduos observados nos fragmentos não é suficiente até mesmo para garantir a conservação imediata. Assim, a conservação das populações naturais deste tipo de ecossistema é importante, sendo necessárias medidas que permitam que a espécie continue seu ciclo evolutivo, garantindo, assim, a manutenção de seu pool genético.

4.4 Mata de Galeria

4.4.1 Frequência alélicas

Os dados das frequências alélicas das árvores de *C. brasiliense* amostradas em Mata de Galeria são apresentadas na Tabela 24.

TABELA 24. Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) de árvores reprodutivas e progênies de populações naturais *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata de Galeria.

Locos	Alelos	Adultos		Progênies
		Cachoeira das Aranhas	Carrancas	Cachoeira das Aranhas
ADH1	1	0,333	0,275	0,407
	2	0,667	0,725	0,593
	n	60	60	199
α -EST1	1	0,500	0,509	0,567
	2	0,500	0,491	0,433
	n	57	57	193
α -EST2	1	0,466	0,466	-
	2	0,534	0,534	-
	n	59	59	-
β -EST1	1	0,263	0,254	0,525
	2	0,737	0,746	0,475
	n	59	59	199
β -EST2	1	0,317	0,292	-
	2	0,683	0,708	-
	n	60	60	-
ACP1	1	0,368	0,458	0,573
	2	0,632	0,542	0,427
	n	53	59	199
ACP2	1	0,466	0,414	-
	2	0,534	0,584	-
	n	58	58	-
ACP3	1	0,373	0,390	-
	2	0,627	0,610	-
	n	57	59	-

“.. continua ..”

“Tabela 24 Cont.”

GLDH1	1	0,322	0,292	0,450
	2	0,678	0,708	0,550
	n	59	60	200
GDH1	1	0,398	0,246	0,465
	2	0,602	0,754	0,535
	n	59	59	200
GTDH1	1	0,229	0,431	0,560
	2	0,771	0,569	0,440
	n	59	58	199
MDH1	1	0,246	0,153	0,442
	2	0,754	0,847	0,558
	n	59	59	198
SDH1	1	0,119	0,331	0,475
	2	0,881	0,669	0,525
	n	60	59	199
SKDH1	1	0,325	0,356	0,487
	2	0,675	0,644	0,513
	n	60	59	195

n = número de árvores amostradas

A análise das freqüências alélicas das populações de árvores de *C. brasiliense*, amostradas na Mata de Galeria e das progênies da cachoeira das Aranhas mostra a segregação de dois alelos e a ausência de alelos exclusivos em todos os locos analisados. Entretanto, a distribuição das freqüências alélicas apresenta uma variação entre os locos nas duas populações, como, por exemplo, loco GTDH1 e SDH1, entre outros.

O alelo 2 apresentou-se em maiores freqüências em 93% dos locos nas duas populações, exceto no loco α -EST1. As maiores freqüências deste alelo foram detectadas nos locos β -EST1, GTDH1, MDH1 e SDH1, na população amostrada na cachoeira das Aranhas e nos locos ADH1, β -EST1, β -EST2, GLDH1, GDH1 e MDH1, na população amostrada em Carrancas.

Os dados das freqüências alélicas das árvores e progênies amostradas na cachoeira das Aranhas mostram que, em alguns locos (ADH1, GLDH1, GDH1, MDH1, SDH1 e SKDH1), a distribuição dos alelos se manteve entre as gerações. Dos locos analisados, 60% apresentaram alelo comum nos adultos e nas progênies. Os locos α -EST2, β -EST2, ACP2 e ACP3 foram detectados somente nas árvores reprodutivas, indicando possíveis efeitos de deriva genética nas gerações desta população. Assim, se os alelos presentes nestes locos estiverem ligados a combinações genotípicas funcionalmente essenciais, quando condições ambientais forem determinantes para a manutenção da base genética de *C. brasiliense*, sua perpetuação e desenvolvimento em determinadas áreas podem ser comprometidos.

Pela análise das freqüências alélicas nas progênies, observa-se que não existe relação entre a variação das freqüências nas árvores reprodutivas e a não detecção destas nas progênies. Os locos que apresentaram as maiores variações nas freqüências alélicas nas árvores adultas (β -EST1, GTDH1, MDH1 e SDH1) foram detectados também nas progênies.

A distribuição das freqüências alélicas das árvores reprodutivas mostra que, na cachoeira das Aranhas, 21% dos seus locos (α -EST1, α -EST2 e ACP2) estão em equidade gênica; já em Carrancas, esta proporção é de, aproximadamente, 35% (α -EST1, α -EST2, ACP1, ACP2 e GTDH1). Estes valores mostram que as árvores amostradas em Carrancas possuem um maior número de locos em equidade gênica, que pode lhe conferir uma maior variabilidade genética, garantindo uma maior proteção contra os efeitos gerados pela deriva genética. Na população de *C. brasiliense* amostrada na cachoeira das Aranhas, não é possível estabelecer uma relação entre locos em equidade gênica nas árvores reprodutivas e sua detecção nas progênies, pois, dos locos ausentes nas progênies (α -EST2, β -EST2, ACP2 e ACP3), dois não se encontravam em equidade nos adultos (β -EST2 e ACP3).

Nas progênies, todos os locos não apresentaram variações na distribuição das freqüências dos dois alelos, indicando a ocorrência de equidade gênica.

4.4.2 Índices de diversidade genética

A partir da análise das freqüências alélicas das populações de árvores reprodutivas e das progênies de *C. brasiliense* amostradas em áreas de Mata de Galeria, foram estimados os índices de diversidade genética (Tabela 25).

TABELA 25. Variabilidade genética de populações de árvores reprodutivas e progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata de Galeria.

Índices de diversidade	Adultos		Progênies
	Cachoeira das Aranhas	Carrancas	Cachoeira das Aranhas
Porcentagem de locos polimórficos (0,99)	100	100	100
Número médio de alelos por loco	2,0	2,0	2,0
Heterozigosidade observada (\hat{H}_o)	0,444 (0,053)	0,492 (0,040)	0,441 (0,020)
Heterozigosidade esperada (\hat{H}_e)	0,430 (0,021)	0,438 (0,018)	0,495 (0,002)
Índice de fixação (\hat{f})	-0,031 [-0,215;0,151]	-0,125 [-0,265;0,017]	0,108* [0,028;0,189]
Tamanho da amostra (n)	60	60	200

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança; * = significativo, a 5% de probabilidade

O polimorfismo detectado nas árvores reprodutivas e progênies foi de 100% e o número de alelos por loco foi 2, nas duas populações.

As estimativas de heterozigosidade observada (\hat{H}_o) e heterozigosidade esperada (\hat{H}_e) nas árvores adultas mostram que, nessas populações, os valores de \hat{H}_o (0,444 e 0,492) são maiores que os de (\hat{H}_e) (0,430 e 0,438). O índice de

fixação (\hat{f}) foi negativo e não diferente de zero, nas duas populações. Os valores de heterozigosidade mostram que a população amostrada na cachoeira das Aranhas, que apresentou menor equidade gênica, possui também menos heterozigotos e, por consequência, menor diversidade genética.

Comparando-se os valores das heterozigosidades das árvores adultas de *C. brasiliense* amostradas em Mata de Galeria com estudos de espécies arbóreas deste mesmo tipo de hábitat, observa-se que, para *Xylopia emarginata* (Jaeger, 2004), encontrou 0,484 e 0,722, para \hat{H}_o e 0,395 e 0,425, para \hat{H}_e . Kawaguici & Kageyama (2001), também estudando *Calophyllum brasiliense*, encontraram 0,141 para \hat{H}_o e 0,223 para \hat{H}_e . Assim, os valores obtidos neste estudo estão próximos aos encontrados por Jaeger (2004) e superiores aos encontrados por Kawaguici & Kageyama (2001).

Os valores encontrados nas populações de Mata de Galeria podem ser considerados altos, tendo em vista os níveis de heterozigosidades encontrados para outras espécies, como *Ocotea tenera* (Gibson & Wheelwright, 1995), de 0,174 para \hat{H}_o e 0,205 para \hat{H}_e ; *Myracrodruon urundeuva* (Lacerda et al., 1999), de 0,076 e 0,121 para \hat{H}_o e de 0,057 e 0,093 para \hat{H}_e ; *Genipa americana* (Sebbenn et al., 2003), de 0,195 para \hat{H}_o e de 0,182 para \hat{H}_e .

Nas progênies amostradas na cachoeira das Aranhas, a heterozigosidade observada (\hat{H}_o) foi menor que a heterozigosidade esperada (\hat{H}_e), indicando que o número de homozigotos é maior do que o esperado segundo o EHW. Assim, o índice de fixação (\hat{f}) foi positivo e diferente zero. De acordo com as estimativas de \hat{H}_o e \hat{H}_e das progênies, a heterozigosidade observada diminuiu, enquanto que a esperada e o índice de fixação aumentaram consideravelmente em relação aos valores observados nas árvores reprodutivas. Valores de \hat{f} menores ou negativos nos adultos em relação às progênies podem ser um indicativo de seleção em favor de heterozigotos nessa fase de desenvolvimento

da planta. A seleção para heterozigotos entre a fase de plântulas e a fase adulta parece ser comum a várias espécies: *Euterpe edulis* (Reis, 1996), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Cryptocaria moschata* (Moraes, 1997), *Cariniana legalis* (Sebbennn et al., 2000a) e *Copaifera langsdorffii* (Oliveira, 2000).

Os resultados mostram que as árvores de *C. brasiliense* amostradas em Carrancas possuem maior número de heterozigotos em relação às da cachoeira das Aranhas. Em Carrancas, a proximidade das microbacias estudadas com outras, possivelmente, favorece a troca de alelos entre as árvores adultas e, conseqüentemente, aumenta a variabilidade genética. Outro fato a ser considerado é o relevo no qual estão localizadas as populações de Mata de Galeria. Na cachoeira da Aranhas, o relevo é mais acentuado e, assim, a presença de maciços rochosos age como uma barreira física à dispersão e polinização, o que pode estar influenciando o fluxo gênico nesta população.

4.4.3 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade de Cockerham para as árvores reprodutivas e para as progênies são apresentados na Tabela 26.

As estimativas médias obtidas das árvores reprodutivas de *C. brasiliense* em áreas de Mata de Galeria resultaram em ausência de endogamia para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0,063$) e também dentro das populações ($\hat{f} = -0,078$), mostrando que essas populações não são endogâmicas. Trabalhos como o de Botrel & Carvalho (2004), estudando populações de *Machaerium vilosum*, também não evidenciaram a ocorrência de endogamia. A ausência de endogamia também foi detectada por Moura (2005), em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* e por Vieira (2005), em populações de *Protium spruceanum*.

TABELA 26. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}), da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$), da divergência genética entre indivíduos dentro de progênies ($\hat{\theta}_F$) e diferenciação genética de Gregorius (\hat{D}_G) de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em Matas de Galeria.

Adultos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	\hat{D}_G
Mata de Galeria	-0,078* [0,071;0,216]	-0,063 [-0,21;0,092]	0,014 [-0,001;0,034]	0,07
Cachoeira das Aranhas	-0,046 [-0,224;0,136]	-0,017 [-0,204;0,167]	0,027 [-0,004;0,076]	0,09
Carrancas	-0,127 [-0,269;0,018]	-0,124 [-0,260;0,015]	0,002 [-0,008;0,013]	0,07
Progênies	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	\hat{D}_G
Cachoeira das Aranhas	0,094* [0,016;0,171]	0,108* [0,028;0,190]	0,016 [-0,000;0,033]	0,11

[]= intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%)

* = significativo, a 5% de probabilidade

A divergência genética ($\hat{\theta}_p$) para as amostras de *C. brasiliense* de Mata de Galeria e para as populações da cachoeira das Aranhas e de Carrancas foi baixa (1,4%). Portanto, a maior parte da variabilidade genética encontra-se dentro das populações e não entre essas. Quando analisadas separadamente, a variabilidade genética dentro da população amostrada na cachoeira das Aranhas foi de 97,3% e, na amostrada em Carrancas, de 99,8%. Entretanto, os dados da diferenciação genética de Gregorius são mais altos, tendo, na cachoeira das Aranhas, a diversidade genética dentro sido de 91% e, na população amostrada em Carrancas, de 93%.

Esses valores estão coerentes com os obtidos para a equidade gênica, confirmando que as árvores amostradas em Carrancas, que possuem mais locos em equidade gênica, apresentam também maior variabilidade genética. Os

valores encontrados estão próximos aos encontrados para *Xylopia emarginata*, 91,7% (Jaeger, 2004) e para *Copaifera langsdorffii*, 86,9% (Oliveira, 2000), que são espécies de ocorrência abundante nesse tipo de hábitat.

As estimativas dos coeficientes de endogamia das progênes da cachoeira das Aranhas mostram a ocorrência de endogamia dentro das famílias e de famílias dentro da população, já que os valores do \hat{f} e do \hat{F} foram positivos, diferentes de zero e significativos. A estimativa da divergência genética entre indivíduos dentro das progênes foi baixa entre as famílias ($\hat{\theta}_F = 1,6\%$). Já a estimativa da diversidade genética de Gregorius mostrou uma divergência de 11% entre as famílias.

4.4.4 Fluxo gênico

O fluxo gênico estimado para as populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata de Galeria foi de 0,83 migrantes por geração (Tabela 27). Esse baixo número indica que o fluxo gênico (\hat{Nm}) não é suficiente para contrapor os possíveis efeitos causados pela deriva genética. No entanto, o \hat{Nm} calculado a partir da divergência genética reflete o fluxo de genes ocorrido durante um longo período. Ele não indica, necessariamente, se está havendo troca gênica 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.

Na população de *C. brasiliense*, amostrada na cachoeira das Aranhas, embora as microbacias estejam localizadas próximas uma da outra (950 m), o número de migrantes foi baixo ($\hat{Nm} = 0,63$). Devido às características do relevo desta área, o fluxo gênico pode estar sendo dificultado por alguma barreira física, visto que as microbacias são separadas por grandes maciços rochosos. Isso pode estar dificultando a dispersão de pólen e sementes, prejudicando a

movimentação de alelos entre as árvores. Em Carrancas, embora mais distantes (1.300 m), as microbacias estão localizadas numa área de relevo menos acentuado.

Assim, a formação de ambientes propícios ao desenvolvimento de *C. brasiliense* é maior, o que favorece a ação dos agentes polinizadores e dispersores e, como consequência, aumenta a chance de troca de alelos entre as árvores. Outro fato importante a ser considerado em Carrancas é a matriz vegetacional, na qual estão inseridas as árvores de *C. brasiliense*, que permite a inserção de novos genótipos, fazendo com que o fluxo seja maior entre as suas microbacias e a diversidade genética entre elas maior do que na população da cachoeira das Aranhas. Jaeger (2004), estudando populações naturais de *Xylopia emarginata* amostradas em Matas de Galeria encontrou valores de $\hat{N}m$ variando de 0,24 a 20,77. Para este autor, a presença de agentes dispersores, principalmente da fauna, é de extrema importância para o fluxo gênico e a ocorrência de barreiras geográficas, como divisores d'água, diminui a movimentação de alelos entre as populações.

TABELA 27. Fluxo gênico ($\hat{N}m$) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) de populações naturais de Mata de Galeria de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Populações de estudo	N	$\hat{N}m$	\hat{N}_b
Mata de Galeria	120	0,83	5,21
Cachoeira das Aranhas	60	0,63	3,95
Carrancas	60	0,83	5,21

N = número de indivíduos amostrados

A estimativa do número de genitores que trocam alelos ao acaso foi de 5 indivíduos para o hábitat Mata de Galeria, 4 entre as árvores localizadas na população amostrada na cachoeira das Aranhas e 5 para a população amostrada em Carrancas. Estes valores mostram que, na população de *C. brasiliense* da cachoeira das Aranhas, o menor tamanho de vizinhança pode resultar em deriva

genética mais acentuada e, como consequência, queda de heterozigidade e menores níveis de variabilidade genética.

4.4.5 Distribuição espacial dos genótipos

A distribuição espacial das árvores de *C. brasiliense* na cachoeira das Aranhas mostra que a espécie ocorre em todo curso d'água (Figura 6), apesar de serem observadas pequenas interrupções em alguns locais, devido à existência de afloramentos rochosos. Assim, nestes locais não há a ocorrência de vegetação. Em Carrancas, as árvores não se encontram distribuídas uniformemente nas duas microbacias.

Devido à predominância de maciços rochosos em uma das microbacias, a ocorrência de *C. brasiliense*, neste curso d'água, é restrita a determinados locais. Na área onde há ausência de afloramentos rochosos, as árvores estão distribuídas em toda a bacia e observa-se a presença de outras espécies arbóreas típicas de Mata de Galeria.

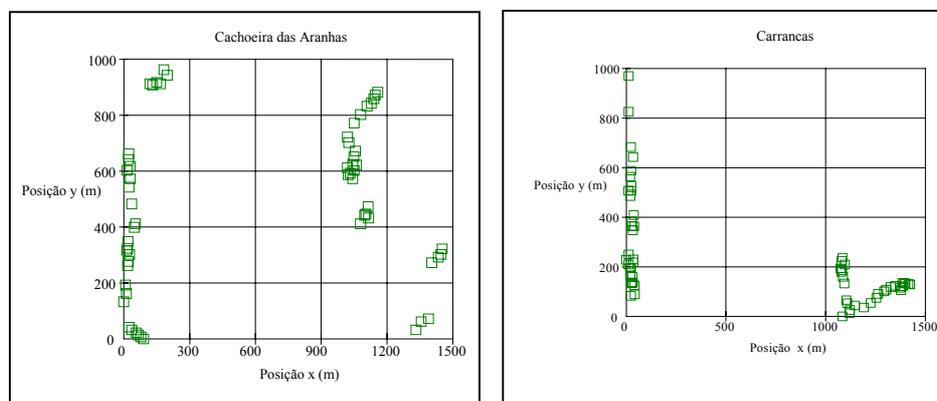


FIGURA 6. Posição e distribuição espacial de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em áreas de Mata de Galeria.

Os correlogramas ilustrando a distribuição espacial dos genótipos de *C. brasiliense* amostrados na Mata de Galeria são apresentados na Figura 7.

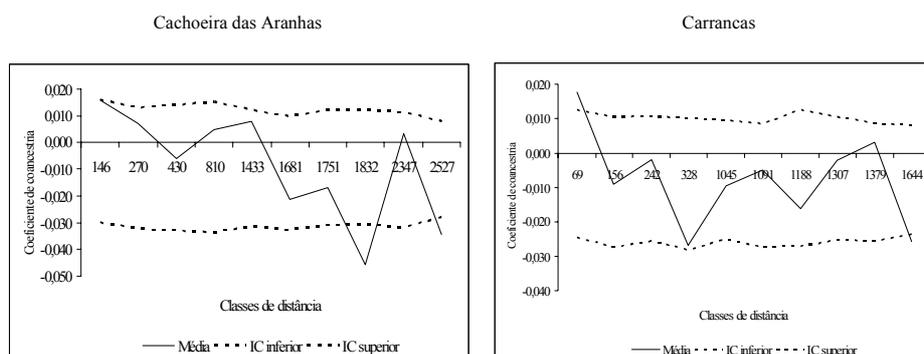


FIGURA 7. Correlograma para o coeficiente de coancestria para classes de distância de árvores de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em fragmentos de Mata de Galeria.

A estimativa do coeficiente de coancestria mostra que existe uma tendência das árvores mais próximas apresentarem maior valor de coancestria do que as mais distantes. Na cachoeira das Aranhas, foram detectados valores positivos e significativos de coancestria entre pares de árvores até uma distância de, aproximadamente, 80 m e, em Carrancas, até 34 m. Assim, para garantir a perpetuação da variabilidade genética de *C. brasiliense* neste ambiente, é necessário que se mantenha uma distância mínima, ao se realizar a coleta de material genético, seja para futuros trabalhos de recuperação ou para o plantio em novas áreas.

4.4.6 Tamanho efetivo

As estimativas de tamanho efetivo obtidas para as populações de *C. brasiliense* amostradas em Mata de Galeria encontram-se na Tabela 28.

TABELA 28. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (n) e população mínima viável (PMV) para populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em Mata de Galeria

Populações	\hat{N}_e	n	\hat{N}_e/n	150*	1.500*
				PMV	PMV
Cachoeira das Aranhas	63	60	1,05	143	1.428
Carrancas	69	60	1,15	130	1.304
Mata de Galeria	130	120	1,08	139	1.389

* Tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e(referência)}$): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

O tamanho efetivo estimado para as duas populações foi de 130 árvores, sendo maior que o número de árvores amostradas (120). Na população amostrada na cachoeira das Aranhas, a estimativa de \hat{N}_e foi 63 e, na amostrada em Carrancas, 69. Estes valores são maiores que o número de árvores amostradas, que foi de 60, em cada população. O excesso de heterozigotos encontrado nas duas populações amostradas na Mata de Galeria, indicado pelos índices de fixação negativos, mostra que as árvores amostradas representam, geneticamente, mais árvores da população, o que é evidenciado pelos valores de \hat{N}_e . De acordo com Sebbenn et al. (2003), em condições de heterozigose, a representatividade dos indivíduos amostrados é maior.

Para a manutenção da variabilidade genética da população de *C. brasiliense* a curto e longo prazo, na cachoeira das Aranhas, são necessárias 143 e 1.428 árvores, respectivamente. Na população amostrada em Carrancas, esses valores são 130 e 1.304 árvores. Quando analisam-se as populações em conjunto, para a Mata de Galeria, o número de árvores é de 139 e 1.389, para a manutenção a curto e a longo prazos.

4.4.7 Sistema reprodutivo

4.4.7.1 Padrões de segregação

Não foram detectados indícios de heterogeneidade de segregação entre as progênes de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno, para os locos de *C. brasiliense* avaliados na cachoeira das Aranhas. O teste $G_{Homogeneidade}$ não detectou diferenças significativas para nenhum dos locos analisados, indicando que a segregação é homogênea em progênes de diferentes árvores de mesmo genótipo materno (Tabela 29). O loco β -EST1 apresentou desvio significativo da hipótese de segregação 1:1, no teste $G_{Agrupado1:1}$, devido ao excesso de homozigotos, evidenciado pela relação $N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$. No entanto, quando a progênie de árvore heterozigótica, apresentando desvio significativo da razão de segregação 1:1 (Tabela 30), foi excluída da análise, o loco ajustou-se à hipótese de segregação 1:1. Desvios de segregação têm sido observados em diversos estudos da herança isoenzimática de espécies arbóreas tropicais e temperadas (Adams & Joly, 1980; Cheliak & Pitel, 1985; Konnert et al., 2001; Sousa et al., 2002).

Diversas podem ser as causas dos desvios de segregação observados no loco β -EST1. Dentre elas, a de as isoenzimas poderem estar sob controle de mais de um loco, seleção, distorções meióticas, interações interalélicas, ligação com locos, possuindo alelos deletérios, erro amostral e erros de interpretação dos zimogramas nos géis (Cheliak & Pitel, 1985; Strauss & Conkle, 1986). A ausência de indícios de heterogeneidade de segregação entre as progênes de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno em *C. brasiliense*, na cachoeira das Aranhas, confirma a herança mendeliana simples para todos os locos.

TABELA 29. Teste para a hipótese de segregação regular de marcadores isoenzimáticos em progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. provenientes da cachoeira das Aranhas.

Loco	Genótipo materno		Número árvores(n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$\sum G_{Hipotesel:1}$ $GL = n$	$G_{Homogeneidade}$ $GL = n - 1$	$G_{Agrupado1:1}$ $GL = n$	Árvores com desvio segregação
ADH1	A_1A_2	a	5	26:24	3,69	3,61	0,08	-
α -EST1	A_1A_2	a	8	35:43	6,54	5,72	0,82	-
β -EST1	A_1A_2	a	11	44:66	10,40	5,97	4,43*	1
		b	10	42:58	6,55	3,98	2,57	-
ACP1	A_1A_2	a	11	49:61	16,12	14,81	1,31	-
GLDH1	A_1A_2	a	4	16:24	5,90	4,29	1,61	-
GDH1	A_1A_2	a	3	13:17	5,90	5,37	0,53	-
GTDH1	A_1A_2	a	3	11:19	3,29	1,13	2,16	-
MDH1	A_1A_2	a	2	9:10	0,53	0,47	0,05	-
SDH1	A_1A_2	a	2	8:12	2,36	1,55	0,81	-

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são números observados de genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

a: inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b: exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,05$ (**) $P < 0,01$.

TABELA 30. Árvore de *Calophyllum brasiliense* Camb. que apresentou desvio significativo no teste G para a segregação meiótica 1:1.

Cachoeira das Aranhas Loco/número da árvore	Genótipo materno	N_{ij}	$N_{ii} + N_{jj}$	$\frac{G}{GL = 1}$
β -EST1				
39	A_1A_2	2	8	3,85*

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

(*) $P < 0,050$. (**) $P < 0,010$.

4.4.7.2 Desequilíbrio de ligação

Os dados do teste de desequilíbrio gamético baseado na medida composta de Burrows mostraram que, das 45 combinações possíveis de pares de locos das progênies da cachoeira das Aranhas, 21 apresentaram desequilíbrio de ligação (Tabela 31). Os resultados mostram que os alelos dos pares de locos em desequilíbrio de ligação estão associados e não segregam de maneira independente, de modo que um dos locos deve ser removido de análises que requeiram locos em equilíbrio gamético. Já os demais pares de locos, em que não foram detectados indícios de ligação gamética, podem ser usados em estudos de sistema de reprodução, estrutura e diversidade genética.

Grande parte das combinações possíveis de locos das progênies da cachoeira das Aranhas, ou seja, 80%, indicou a ocorrência de desequilíbrio genotípico com locos ligados em acoplamento. Apenas em 20% das combinações o desequilíbrio mostrou estar ocorrendo em locos em repulsão, nas seguintes combinações: α -EST1/ β -EST1, β -EST1/GDH1, ACP1/MDH1 e ACP1/SKDH1.

TABELA 31. Valores da medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$), com respectivos testes de qui-quadrado (χ^2) e probabilidades associadas (P), para pares de locos isoenzimáticos que apresentaram desvios significativos da hipótese de desequilíbrio de ligação de uma população de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostrada em Mata de Galeria.

Cachoeira das Aranhas Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	P
ADH1/GLDH1	0,1127	16,00	0,0001
ADH1/GDH1	0,2162	4,32	0,0377
α -EST1/ β -EST1	-0,2039	4,37	0,0366
β -EST1/GDH1	-0,2055	4,16	0,0412
β -EST1/MDH1	0,2315	5,90	0,0151
ACP1/GTDH1	0,2089	4,93	0,0263
ACP1/MDH1	-0,1985	4,12	0,0422
ACP1/SDH1	0,2500	4,10	0,0428
ACP1/SKDH1	-0,1945	5,00	0,0253
GLDH1/GTDH1	0,2039	5,06	0,0245
GLDH1/MDH1	0,1506	18,00	0,0000
GLDH1/SDH1	0,1948	4,67	0,0306
GLDH1/SKDH1	0,2096	7,159	0,0075
GDH1/GTDH1	0,2039	6,55	0,0104
GDH1/MDH1	0,1902	8,00	0,0047
GDH1/SDH1	0,1901	10,51	0,0012
GDH1/SKDH1	0,1924	5,50	0,0190
GTDH1/MDH1	0,1892	4,31	0,0377
GTDH1/SKDH1	0,1876	5,86	0,0155
MDH1/SKDH1	0,2189	6,87	0,0087
SDH1/SKDH1	0,1924	5,50	0,0190

4.4.7.3 Aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

A avaliação da existência do EHW na população de *C. brasiliense* da cachoeira das Aranhas foi verificada nas árvores reprodutivas e nas progênies. Estas foram submetidas ao teste exato de Fisher, com o objetivo de avaliar se suas proporções genóticas se ajustam ao modelo de EHW. O modelo de equilíbrio tem como pressupostos cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, seleção, deriva genética e tamanho infinito das populações (Futuyma, 1992; Mettler & Gregg, 1973) e prediz que, em equilíbrio, há a ausência de

alterações nas frequências alélicas de uma geração para outra, evidenciando apenas uma possível redistribuição dos alelos dentro dos genótipos da nova geração (Futuyma, 1992).

A porcentagem de locos em EHW foi de 42% nos adultos e 60% nas progênies (Tabela 32), indicando desvios de cruzamentos aleatórios e ou atuação de forças evolucionárias. Os locos ADH1 e SDH1 demonstraram estar em EHW, tanto nos adultos como nas progênies; já os locos GTDH1, MDH1 e SKDH1 mostraram desvios significativos do modelo, tanto nos adultos como nas progênies. Vários são os fatores que podem causar desvios do EHW; tanto o sistema reprodutivo da espécie como fatores evolutivos (migração, mutação e deriva genética) podem contribuir significativamente para tal efeito.

TABELA 32. Probabilidades do teste exato de Fisher para a hipótese do equilíbrio de Hardy-Weinberg, para as árvores reprodutivas e progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas na cachoeira das Aranhas.

Locos polimórficos	P (Fisher)	
	Adultos	Progênies
ADH1	0,580 ^{ns}	0,053 ^{ns}
α-EST1	0,014 [*]	0,881 ^{ns}
α-EST2	0,117 ^{ns}	-
β-EST1	0,319 ^{ns}	0,028 [*]
β-EST2	0,201 ^{ns}	-
ACP1	0,000 ^{**}	0,336 ^{ns}
ACP2	0,092 ^{ns}	-
ACP3	0,000 ^{**}	-
GLDH1	0,037 [*]	0,372 ^{ns}
GDH1	0,004 ^{**}	0,498 ^{ns}
GTDH1	0,010 [*]	0,000 ^{**}
MDH1	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}
SDH1	0,622 ^{ns}	0,829 ^{ns}
SKDH1	0,002 ^{**}	0,007 ^{**}

* P<0,05 ** P<0,01; ^{ns} = não significativo

4.4.7.4 Homogeneidade das freqüências de pólen e óvulos

O teste de qui-quadrado (χ^2) para a divergência genética entre as freqüências alélicas dos óvulos e pólen foi significativo para 100% dos locos analisados nas progênies da população de *C. brasiliense* amostrada na cachoeira das Aranhas (Tabela 33). Estes valores sugerem que a distribuição do pólen não foi homogênea para os cruzamentos individuais, indicando a ocorrência de cruzamentos biparentais, ou seja, foram gerados pelo mesmo parental materno e paterno.

De acordo com Mitton (1992), a contribuição de pólen e óvulos entre árvores adultas dentro de uma população pode ter origem na variação espacial e temporal entre as árvores, na fenologia e também na fecundidade. Já Murawski & Hamrick (1991) atribuíram esta mesma desigualdade também à proporção de árvores adultas que se reproduzem. Para outras espécies arbóreas tropicais, como *Eremanthus erytropappus* (Moura, 2005) e *Cariniana legalis* (Sebbenn et al., 2000a), a ocorrência de distribuição de pólen não homogênea para cruzamentos individuais também já foi evidenciada.

A divergência genética (\hat{F}_{ST}) nas freqüências alélicas dos adultos vs. progênies foi detectada em 70% dos locos analisados na cachoeira das Aranhas (Tabela 34), sugerindo a ocorrência de alterações nas freqüências alélicas entre as duas gerações. Como os marcadores isoenzimáticos possuem natureza supostamente neutra, excluindo, assim, fatores evolutivos, como seleção e mutação, os desvios detectados podem ser atribuídos a fatores como a deriva genética e ou ao sistema de reprodução. Nesta população, tanto o sistema reprodutivo como a deriva genética podem ser os responsáveis pela ocorrência dos desvios detectados. Por outro lado, o aumento no valor do índice de fixação das progênies em relação aos adultos mostra a ocorrência de alterações ocorrendo também nas freqüências genotípicas, o que é típico de desvio causado pelo sistema reprodutivo.

TABELA 33. Divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre as frequências alélicas de pólen e óvulos de progênies de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostradas em área de Mata de Galeria.

Loco	Alelo	Cachoeira das Aranhas					
		Pólen	Óvulos	\hat{F}_{ST}	n	χ^2	GL
ADH1	1	0,506	0,350	0,0282	199	11,22**	1
	2	0,494	0,650				
α -EST1	1	0,625	0,525	0,0791	193	30,53**	1
	2	0,375	0,475				
β -EST1	1	0,546	0,500	0,0723	199	28,77**	1
	2	0,454	0,500				
ACP1	1	0,613	0,525	0,0487	199	19,38**	1
	2	0,387	0,475				
GLDH1	1	0,433	0,475	0,0333	200	13,32**	1
	2	0,567	0,525				
GDH1	1	0,493	0,450	0,0483	200	19,32**	1
	2	0,507	0,550				
GTDH1	1	0,590	0,500	0,1079	199	42,94**	1
	2	0,410	0,500				
MDH1	1	0,454	0,450	0,0756	198	29,93**	1
	2	0,546	0,550				
SDH1	1	0,444	0,525	0,1105	199	43,97**	1
	2	0,521	0,475				
SKDH1	1	0,479	0,500	0,0661	195	25,77**	1
	2	0,521	0,500				

n = tamanho amostral; (*): $P \leq 0,05$, (**): $P \leq 0,01$.

A comparação entre as frequências alélicas das árvores adultas vs. pólen revelou divergências genéticas baixas para a maioria dos locos, com exceção dos locos GTDH1 e SDH1. Já para árvores adultas vs. óvulos, apenas o loco SDH1 apresentou alto valor de \hat{F}_{ST} (0,1888). Esses resultados mostram que as 20 árvores amostradas na cachoeira das Aranhas não foram suficientes para representar as árvores adultas, em termos de frequências alélicas.

A heterogeneidade detectada nas frequências alélicas dos adultos vs. pólen foi de 90%, indicando que as frequências alélicas do pólen efetivamente

cruzado e das matrizes que deram origem às progênies não eram perfeitamente representativas da população. Portanto, supõe-se que a diferença observada possa ter sido gerada por cruzamento entre parentes, cruzamentos biparentais e ou pólen de outras populações e amostragem não representativa das árvores maternas nas populações.

TABELA 34. Divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre as frequências alélicas dos adultos vs. progênies, adultos vs. pólen e adultos vs. óvulos da população de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostrada em Mata de Galeria.

Loco	\hat{F}_{ST}		
	Cachoeira das Aranhas		
	Adultos vs progênies	Adultos vs pólen	Adultos vs óvulos
ADH-1	0,0059	0,0307*	0,0003
α -EST-1	0,0045	0,0159*	0,0006
β -EST-1	0,0719**	0,0831**	0,0595**
ACP1	0,0422*	0,0600**	0,0249*
GLDH-1	0,0173*	0,0131*	0,0244*
GDH-1	0,0046	0,0091	0,0028
GTDH-1	0,1147**	0,1347**	0,0793**
MDH-1	0,0426*	0,0475*	0,0459*
SDH-1	0,1517**	0,1370**	0,1888**
SKDH-1	0,0272*	0,0247*	0,0316*

*: $P \leq 0,05$ **: $P \leq 0,01$

4.4.7.5 Taxas de cruzamento multilocos e uniloco

Para a população da cachoeira das Aranhas, as estimativas das taxas de cruzamento mostram que 97,4% das plantas foram provenientes de cruzamento, sendo 93,4% entre não aparentados e 4% entre aparentados (Tabela 35).

As altas taxas de cruzamento encontradas reforçam a hipótese de que os desvios ao EHW encontrados são provenientes de fatores evolutivos, como deriva genética e migração. O valor encontrado para a taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m) não foi estatisticamente diferente de 1,0 (0,974 \pm 0,035),

mostrando que a espécie nesta população se reproduz por cruzamento misto com predominância de alogamia. Outras espécies arbóreas tropicais também apresentaram valores elevados nas estimativas da taxa de cruzamento, como *Chorisia speciosa* St. Hil (Souza et al., 2003), *Eremanthus erythropappus* MacLeish (Moura, 2005), *Copaifera langsdorffii* (Oliveira et al., 2002) e *Esenbeckia elicocarpa* (Seoane et al., 2001).

A taxa de cruzamento unilocos (\hat{t}_s) foi alta e significativamente diferente da unidade (0,934±0,008), mas inferior à estimativa da taxa de cruzamentos multilocos, confirmando que a espécie *C. brasiliense* é de sistema misto predominantemente de cruzamento e sugerindo a possibilidade de terem ocorrido cruzamentos entre indivíduos aparentados na população.

A correlação na estimativa de t (\hat{r}_s), ou seja, a probabilidade de se encontrar um indivíduo gerado por autofecundação em uma progênie em que existe outro também gerado por autofecundação, foi baixa (0,094±0,009), revelando a presença de indivíduos advindos de autofecundação, dentro das progênies. A correlação da estimativa de p (\hat{r}_p) ou a probabilidade de se encontrar indivíduos irmãos-completos, ou de indivíduos de cruzamentos que foram gerados por cruzamentos biparentais, foi baixa (0,278±0,051), mas não significativa, sugerindo a presença de cruzamentos preferenciais, portanto, também de meios-irmãos e autofecundação.

TABELA 35. Estimativa dos parâmetros do sistema de reprodução de uma população natural de *Calophyllum brasiliense* Camb. amostrada em área de Mata de Galeria.

Parâmetros	População
	Cachoeira das Aranhas
Taxa de cruzamento multilocos (\hat{t}_m)	0,974 (0,035)
Taxa de cruzamento unilocos (\hat{t}_s)	0,934 (0,008)
Taxa de cruzamento entre aparentados ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$)	0,040 (0,032)
Correlação de autofecundação (\hat{r}_s)	0,094 (0,009)
Correlação de paternidade (\hat{r}_p)	0,278 (0,051)
Nº médio de árvores doadoras de pólen ($1/\hat{r}_p$)	3,59
Proporção de irmãos de autofecundação (\hat{P}_{IA})	2,6%
Proporção de irmãos completos (\hat{P}_{IC})	27%
Proporção de meios-irmãos (\hat{P}_{MI})	70,3%
Índice de fixação nas árvores maternas (\hat{F}_m)	0,000
Índice de fixação nas árvores adultas (\hat{F}_a)	-0,031 [-0,215;0,151]
Índice de fixação nas progênies (\hat{F}_p)	0,108* [0,028;0,189]
Coancestria dentro de progênies ($\hat{\theta}_{xy}$)	0,177
Tamanho efetivo de variância ($\hat{N}_{e(v)}$)	2,32
Tamanho efetivo de variância total ($\hat{N}_{e(v)t}$)	46,5
Número de matrizes para reter $\hat{N}_e = 150$ (\hat{m})	65
Número total de árvores matrizes (m)	20
Número total de progênies (n)	200

[] Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 10.000 reamostragens (*bootstrap*) sobre locos.

() Erro padrão da média, obtido por 1.000 reamostragens (*bootstrap*).

O valor da correlação de paternidade encontrado para esta população está próximo aos encontrados por Sebbenn et al. (2000) que, estudando populações naturais de *Cariniana legalis* (Mart.), encontraram variação para esta estimativa de 0,212 a 0,324. A relação $1/\hat{r}_p$, que indica o número médio de árvores doadoras de pólen no evento de reprodução de uma árvore-mãe, foi de quatro indivíduos, próximo ao encontrado para *Grevillea iaspícua* (Hoebee & Young, 2001) e *Eucalyptus rameliana* (Sampson, 1998).

Combinando-se a taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m) com a correlação de paternidade (\hat{r}_p), verifica-se, para esta população, que 2,6% das progênes analisadas foram originadas de autofecundação, sendo $(1 - \hat{t}_m)$ a relação de parentesco de autofecundação; 27% foram originadas por cruzamentos biparentais ($\hat{t}_m \times \hat{r}_p$), sendo aparentadas no grau de irmãos-completos e 70,3% por cruzamentos aleatórios [$\hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$], portanto, aparentadas no grau de meios-irmãos. Estes valores mostram que as progênes de *C. Brasiliense*, amostradas na cachoeira das Aranhas, são, em sua maioria, compostas de meios-irmãos.

O coeficiente de coancestria dentro das progênes ($\hat{\theta}_{xy}$), que é utilizado nos programas de melhoramento, conservação genética e na estimativa do coeficiente de parentesco dentro das progênes, foi de 0,177 para a população amostrada na cachoeira das Aranhas, superior em 41,6% ao esperado para progênes de meios-irmãos (0,125). Em espécies de cruzamentos, o coeficiente de correlação é o dobro do coeficiente de coancestria ($r_{xy} = 2\theta_{xy}$), de forma que alterações na coancestria geram, simultaneamente, alterações no coeficiente de correlação de parentesco. Em progênes perfeitamente de meios-irmãos o coeficiente de parentesco estima 25% de variação genética aditiva. Assim, a

correlação de parentesco estimada do coeficiente de coancestria para a população da cachoeira das Aranhas corresponde a 0,354, o que, em termos de melhoramento, indica que assumir progênies de meios-irmãos para a estimativa de parâmetros genéticos irá gerar uma superestimativa na variância genética aditiva.

O tamanho efetivo de variância ($\hat{N}_{e(v)}$), que mede a representatividade genética de uma população em função de alterações nas frequências alélicas entre as gerações devido aos efeitos da deriva genética, foi de 2,32, ou seja, a metade do valor teórico máximo esperado (4) em uma simples progênie de uma população idealizada (tamanho infinito, praticando cruzamentos aleatórios, sem seleção, mutação e migração).

A taxa de cruzamento individual por árvore materna (t) foi baixa para grande parte dos cruzamentos, não variando dentro das populações, exceto para a família de número 12, que apresentou uma taxa de cruzamento de 0,74 (Tabela 36).

TABELA 36. Taxa de cruzamento por progênie (t), taxa de cruzamentos multilocos (\hat{t}_m), unilocos (\hat{t}_s), correlação de autofecundação (\hat{r}_s) e correlação de paternidade (\hat{r}_p) da cachoeira das Aranhas

Progênies	t	\hat{t}_m	\hat{t}_s	$\hat{t}_m - \hat{t}_s$	\hat{r}_s	\hat{r}_p
01	0,10(0,00)					
02	0,11(0,00)					
03	0,11(0,00)					
04	0,10(0,00)					
05	0,12(0,00)					
06	0,09(0,00)					
07	0,10(0,00)					
08	0,12(0,00)					
09	0,11(0,00)					
10	0,11(0,00)					
11	0,10(0,00)					

“...continua...”

“Tabela 36 Cont.”

12	0,74(0,19)					
13	0,12(0,00)					
14	0,12(0,00)					
15	0,13(0,00)					
16	0,11(0,00)					
17	0,12(0,00)					
18	0,11(0,00)					
19	0,12(0,00)					
20	0,11(0,00)					
Média		0,974 (0,035)	0,934 (0,008)	0,040 (0,032)	0,094 (0,009)	0,278 (0,051)

(): erro padrão da média

4.5 Variabilidade genética de *C. brasiliense* em habitats distintos

A distribuição das frequências alélicas das árvores de *C. brasiliense* foi variável entre os habitats Mata Ciliar, Floresta Paludosa e Mata de Galeria. A porcentagem de locos em equidade gênica foi diferente entre as populações que ocorrem no mesmo habitat e entre as populações de habitats diferentes (Tabela 37).

TABELA 37. Porcentagem de locos em equidade gênica de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Habitat	Populações naturais	Porcentagem de locos em equidade gênica	
		Adultos	Progênies
Mata Ciliar	Rio das Mortes	57%	75%
	Rio Grande	50%	67%
Floresta Paludosa	Lavras	28%	-
	Itumirim	22%	-
Mata de Galeria	Cachoeira das Aranhas	21%	100%
	Carrancas	35%	-

As populações de *C. brasiliense*, amostradas em áreas de Mata Ciliar e a de Mata de Galeria, amostrada em Carrancas, apresentaram uma maior

porcentagem de locos em equidade gênica, indicando que estas se encontram menos susceptíveis à perda ou à fixação de alelos. Pelo fato de essas populações possuírem locos em equidade gênica, a manutenção da sua diversidade genética pode ser assegurada, caso não ocorram distúrbios nestas áreas. As populações amostradas na Floresta Paludosa e a de Mata de Galeria, amostrada na cachoeira das Aranhas, apresentaram uma menor proporção de locos em equidade gênica, aumentando a probabilidade de perda ou de fixação de alelos. As áreas de Floresta Paludosa são caracterizadas por pequenos remanescentes e as populações de *C. brasiliense*, nestes locais, apresentam tamanho reduzido, sendo, portanto, mais susceptíveis à antropização, pelo desmatamento, pela pecuária ou pela retirada da vegetação. Assim, além de garantir a preservação e a manutenção desses remanescentes, são necessárias medidas que garantam a conectividade dos mesmos, de forma que toda a matriz vegetacional de inserção possa exercer o seu papel de vetor, contribuindo para a ação dos agentes dispersores e polinizadores que são fundamentais para a manutenção da variabilidade genética.

As maiores proporções de locos em equidade gênica refletiram nas estimativas de heterozigosidade (Tabela 38). As estimativas de heterozigosidade das árvores reprodutivas mostraram que houve uma relação entre locos em equidade gênica e número de heterozigotos. As árvores de *C. brasiliense* presentes na Mata Ciliar e Mata de Galeria apresentaram os maiores valores de locos em equidade gênica e também maior número de heterozigotos, 0,409 e 0,468, respectivamente. Na Floresta Paludosa, as árvores tiveram menor valor de \hat{H}_o (0,355), refletindo um menor número de heterozigotos nestas populações. Somente na Mata de Galeria, o valor de \hat{H}_o foi superior ao valor de \hat{H}_e (0,468 e 0,437), demonstrando que o número de heterozigotos é superior ao esperado pelo EWH. As estimativas de heterozigosidade nas progênies mantiveram-se próximas às dos adultos, na Mata Ciliar e na Mata de Galeria.

TABELA 38. Variabilidade genética de árvores reprodutivas e progênes de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Hábitat		Índices		
		Heterozigosidade observada (\hat{H}_o)	Heterozigosidade esperada (\hat{H}_e)	Índice de fixação (\hat{f})
Mata Ciliar	Adultos	0,409 (0,015)	0,484 (0,006)	0,155* [0,088;0,218]
	Progênes	0,493 (0,025)	0,488 (0,003)	-0,009 [-0,095;0,095]
Floresta Paludosa	Adultos	0,355 (0,019)	0,457 (0,015)	0,302* [0,205;0,382]
	Progênes	-	-	-
Mata de Galeria	Adultos	0,468 (0,046)	0,437 (0,015)	-0,071 [-0,213;0,089]
	Progênes	0,441 (0,020)	0,495 (0,002)	0,108* [0,028;0,189]

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança; * = significativo ao nível de 5% de probabilidade

Nas árvores reprodutivas, o índice de fixação (\hat{f}) foi positivo e significativo nas populações amostradas na Mata Ciliar e na Floresta Paludosa, indicando que o número de homozigotos foi superior ao esperado pelo EHW. Como *C. brasiliense* é uma espécie que possui preferência por solos com alta umidade e saturação hídrica, as áreas favoráveis ao seu estabelecimento e desenvolvimento são ambientes menos antropizados, o que, geralmente, não ocorre nestes locais. Apenas o índice de fixação, detectado nas áreas de Mata de Galeria, demonstra uma possível seleção a favor de heterozigotos. Como estas áreas encontram-se menos antropizadas, principalmente por serem de difícil acesso e se localizarem em regiões com solo e relevo não favoráveis à agricultura e pecuária, suas populações naturais estão mais conservadas geneticamente.

Nas progênes, o índice de fixação foi positivo e diferente de zero somente na Mata de Galeria, evidenciando que o número de homozigotos é

superior ao esperado pelo EHW. Como a população da cachoeira das Aranhas, a qual representa as progênies, está localizada em uma área de relevo bastante acentuado e por ser freqüente a presença de maciços rochosos em alguns locais, agentes responsáveis pela manutenção da variabilidade da espécie, como os polinizadores, podem estar encontrando barreiras naturais e isso estaria contribuindo para o fluxo de pólen entre árvores mais próximas, caracterizando uma maior proporção de homocigotos nas progênies.

Os coeficientes de coancestralidade (Tabela 39) mostraram a ocorrência de endogamia para as árvores de *C. brasiliense* na Mata Ciliar e Floresta Paludosa. As taxas mais altas de endogamia foram encontradas na Mata Ciliar, sendo a estimativa de endogamia dentro das populações de 0,014 e, para o conjunto de populações, 0,191, ambas significativas. Para as árvores da Mata de Galeria foi detectada ausência de endogamia dentro das populações e para o conjunto das populações. Nos três habitats, a maior parte da diversidade genética encontra-se distribuída dentro das populações. A Floresta Paludosa foi a que apresentou a maior proporção da diversidade genética entre suas populações, 13,3%. A menor proporção de diversidade genética entre populações foi detectada na de Mata de Galeria (1,4%), indicando que 98,6% da variabilidade genética encontra-se dentro das suas populações.

O fluxo gênico estimado entre as populações de cada habitat não é suficiente para contrapor os possíveis efeitos causados pela deriva genética (Tabela 40). Isso reforça a necessidade de implantação de medidas que garantam a conservação, a restauração e a manutenção de Matas Ciliares, Florestas Paludosas e Matas de Galeria.

A falta de conectividade entre as populações de *C. brasiliense*, a retirada de árvores e a ausência de regeneração refletiram nas estimativas de fluxo gênico. Sem dúvida, o comprometimento da troca de alelos pelo fluxo de pólen

ou sementes faz com que o movimento destes seja restrito a poucas populações, aumentando, assim, a diversidade genética entre as mesmas.

TABELA 39. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}), da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) e diferenciação genética de Gregorius (\hat{D}_G) de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Adultos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	\hat{D}_G
Mata Ciliar	0,114* [0,024;0,191]	0,191* [0,131;0,248]	0,086* [0,030;0,151]	0,174
Floresta	0,060	0,185*	0,133*	0,192
Paludosa	[-0,032;0,157]	[0,064;0,296]	[0,073;0,213]	
Mata de Galeria	-0,078* [0,071;0,216]	-0,063 [-0,21;0,092]	0,014 [-0,001;0,034]	0,07

[] = intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%)

* = significativo, a 5% de probabilidade

TABELA 40. Fluxo gênico ($\hat{N}m$) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) de populações naturais de Mata de Galeria de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Populações de estudo	N	$\hat{N}m$	\hat{N}_b
Mata Ciliar	120	0,296	4,17
Floresta Paludosa	120	0,263	3
Mata de Galeria	120	0,83	11

N = número de indivíduos amostrados

As estimativas de identidade genética, baseadas na identidade genética de Nei (1972) para as seis populações de *C. brasiliense* (Tabela 41), mostram uma variação de 84,1% a 100%, demonstrando alta identidade genética entre as árvores.

De acordo com a análise de agrupamento, não foi possível detectar uma relação entre hábitat de ocorrência e identidade genética, como, por exemplo, a

população do rio Grande e a população de Lavras, que apresentam 100% de identidade genética, embora sejam de habitats diferentes (Figura 8).

O teste de Mantel (Manly, 1997), aplicado para as populações de *C. brasiliense*, não evidenciou a existência de uma correlação entre as distâncias geográficas e a identidade genética ($r_m = 0,063$) (Figura 9).

TABELA 41. Identidade de Nei (1972) e identidade de coancestria de populações naturais de três condições de ocorrência de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Populações naturais						
	RM	RG	LV	IT	ARA	CA
RM	-	0,911	0,911	0,929	0,954	0,953
RG	0,086	-	1,000	0,841	0,856	0,850
LV	0,086	0,010	-	0,841	0,856	0,850
IT	0,077	0,172	0,172	-	0,897	0,886
ARA	0,045	0,150	0,150	0,119	-	0,983
CA	0,045	0,153	0,153	0,130	0,014	-

RM – rio das Mortes, RG – rio Grande; LV – Lavras; IT – Itumirim; ARA – cachoeira das Aranhas e CA - Carrancas
 acima da diagonal – Identidade de Nei (1972)
 abaixo da diagonal – Identidade de coancestria

Nos três habitats, as árvores de *C. brasiliense* mostraram que a sua distribuição espacial está diretamente relacionada a sua preferência em colonizar solos com alta umidade e saturação hídrica. Assim, nas áreas de maior umidade, sua distribuição é aleatória. Como o estado de conservação da matriz vegetacional no qual estão inseridas as populações e as características de cada habitat favorecem a formação de áreas de sua preferência, sua distribuição mostrou-se variável entre as populações de mesmo habitat e de habitats diferentes, com conseqüências na distribuição da variabilidade genética.

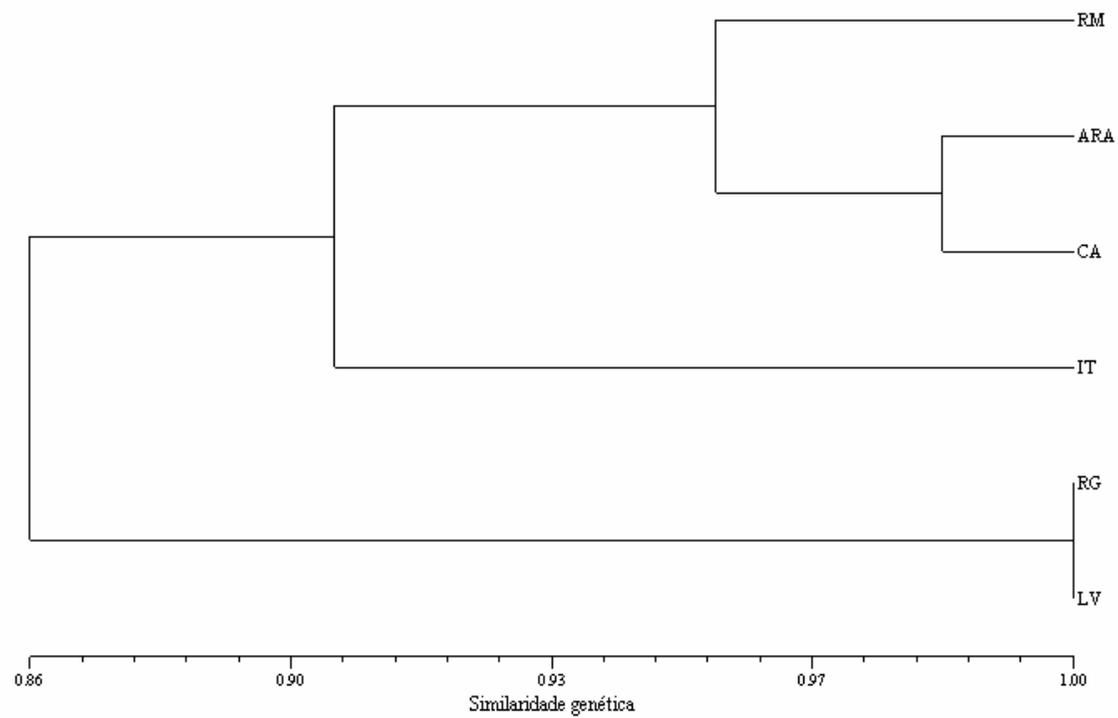
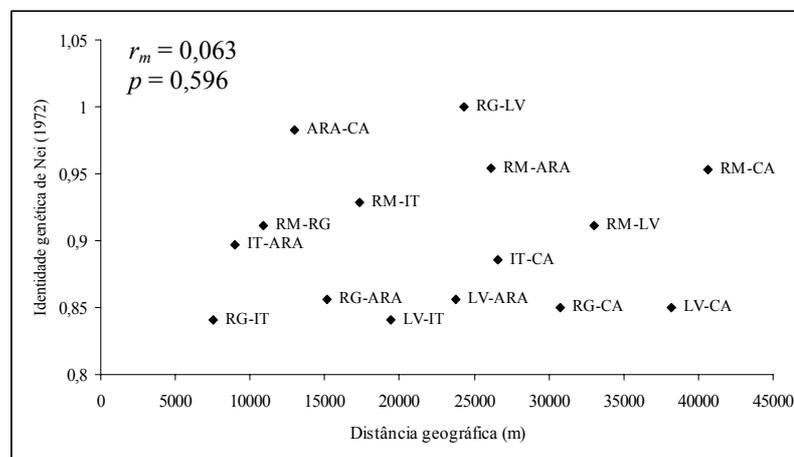


FIGURA 8. Análise de agrupamento das distâncias genéticas de populações naturais de três condições de ocorrência de *Calophyllum brasiliense* Camb

Para as populações de Mata Ciliar, a ausência da vegetação em determinadas áreas das margens do rio das Mortes e do rio Grande parece ser um dos fatores precursores na distribuição de *C. brasiliense*. Tendo em vista que esta ausência de vegetação diminui a capacidade de ocorrência de áreas propícias ao seu desenvolvimento, a distribuição das árvores é influenciada significativamente pelos fatores extrínsecos à espécie.



RM – rio das Mortes, RG – rio Grande; LV – Lavras; IT – Itumirim; ARA – cachoeira das Aranhas e CA – Carrancas

FIGURA 9 – Correlação entre a distância geográfica e a identidade genética de Nei (1972) de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Na população amostrada no rio das Mortes, a distribuição de *C. brasiliense* é caracterizada por pequenos grupos de árvores em toda a margem, tendo em vista que a vegetação ciliar remanescente concentra-se apenas em alguns locais. Na população amostrada no rio Grande, a distribuição é agregada, concentrando-se mais acima do reservatório, visto que, nestas áreas, a vegetação ciliar mantém-se mais preservada. Nas populações amostradas na Floresta

Paludosa, a distribuição de *C. brasiliense* é mais aleatória nos locais onde a umidade e a saturação hídrica se distribuem de forma mais homogênea. A presença da alta umidade, a saturação hídrica e os diferentes mecanismos de dispersão (hidrocoria, barocoria e zoocoria) favorecem a propagação, a germinação e o estabelecimento desta espécie nestes locais. Nas populações amostradas na Mata de Galeria, a presença de maciços rochosos atua como uma barreira física à dispersão, o que pode influenciar a distribuição de *C. brasiliense* neste ambiente. Outro fato importante é que estes maciços impedem o estabelecimento e o desenvolvimento de *C. brasiliense*, restringindo o número de indivíduos e aumentando, consideravelmente, a distância entre os mesmos. Portanto, nestas áreas, a distribuição agregada é comum nos locais onde há maior umidade e saturação hídrica.

A probabilidade de se amostrarem dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência (coeficiente de coancestria) foi verificada nos três habitats, evidenciando uma tendência de as árvores mais próximas apresentarem maior valor de coancestria do que as mais distantes. As populações amostradas em Mata Ciliar apresentaram valores positivos e significativos de coancestria a uma distância de até 440 m no rio das Mortes e 180 m no rio Grande. Nas de Floresta Paludosa, em Lavras, isso ocorreu até uma distância de 16 m e, em Itumirim, até 24 m. Nas populações amostradas na Mata de Galeria, foram detectados valores positivos e significativos de coancestria até a uma distância de, aproximadamente, 80 m na cachoeira das Aranhas e de 34 m em Carrancas.

Ao se escolher áreas para a coleta de sementes, seja para o plantio ou para a recuperação de áreas, é de fundamental importância o conhecimento dos níveis de variabilidade genética das populações estabelecidas nestes locais. Assim, durante a coleta, é necessário que a variabilidade genética da espécie seja ampla e bem representada. Porém, é importante manter uma distância mínima de

coleta entre as árvores que, nos três habitats, foi de 440 m para o habitat Mata Ciliar, 39 m para Floresta Paludosa e 80 m para Mata de Galeria. Assim, se a coleta, nestes locais, for realizada com este critério, as progênies estariam assegurando a variabilidade genética da espécie.

As estimativas do tamanho efetivo (\hat{N}_e) confirmam a ocorrência de endogamia nos ambientes de Mata Ciliar e Floresta Paludosa, pois os valores foram inferiores ao número de indivíduos amostrados (Tabela 42). Na Mata de Galeria, o maior número de heterozigotos nas árvores adultas, indicado pelo índice de fixação negativo, gerou um valor maior de \hat{N}_e .

O número mínimo de árvores para assegurar a manutenção dos níveis de variabilidade genética a curto prazo foi de 168 árvores para a Mata Ciliar, 159 para a Floresta Paludosa e 139 para a Mata de Galeria. Para a conservação a longo prazo foi de 1.685 para o primeiro habitat, 1.594 para o segundo e 1.389 para o terceiro. De acordo com estes resultados, nota-se que a variabilidade genética das populações de *C. brasiliense*, amostradas em Floresta Paludosa, pode estar comprometida, uma vez não ser possível encontrar o número suficiente de árvores reprodutivas dentro dos fragmentos. Para os demais habitats, principalmente de Mata Ciliar, para que a variabilidade genética seja mantida, é necessário a manutenção ou, também, a recomposição de alguns trechos da área ciliar, já que as árvores tendem a ficar restritas a certos locais específicos da margem. Uma vez estabelecidas medidas que garantam a conservação a curto-prazo das populações naturais de *C. brasiliense*, a probabilidade de essa espécie garantir sua variabilidade genética a longo prazo, provavelmente, torna-se-á efetiva.

TABELA 42. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (n) e a população mínima viável (PMV) para habitats naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb.

Habitats	\hat{N}_e	n	\hat{N}_e/n	150*	1.500*
				PMV	PMV
Mata Ciliar	107	120	0,89	168	1.685
Floresta Paludosa	113	120	0,941	159	1.594
Mata de Galeria	130	120	1,08	139	1.389

* Tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e(referência)}$): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

O sistema reprodutivo das populações estudadas mostrou que *C. brasiliense* apresenta cruzamento misto, com predominância de alogamia. Na população amostrada no rio das Mortes e no rio Grande, a probabilidade de as plantas deixarem descendentes por autofecundação foi baixa, indicando que indivíduos de autofecundação são distribuídos aleatoriamente entre as progênies. Na população amostrada na cachoeira das Aranhas, também apesar de baixa, os dados revelaram a presença de indivíduos advindos de autofecundação dentro das progênies. Os resultados mostraram a ocorrência de cruzamentos preferenciais (autofecundação, meios-irmãos e irmãos-completos), nos locais supracitados. Na população amostrada no rio das Mortes, a porcentagem de progênies oriundas de autofecundação foi 0,7% e na amostrada na cachoeira das Aranhas, 2,6%. Na população amostrada no rio Grande não foi detectado o surgimento de progênies por autofecundação. A taxa de cruzamentos aleatórios (meio-irmãos) foi detectada nas duas populações de Mata Ciliar, 48,9% no rio das Mortes e 40,6% no rio Grande. Na cachoeira das Aranhas, esta taxa foi de 70,3%. A proporção de progênies originadas de cruzamentos biparentais (irmãos-completos) foi de 50,3% na população amostrada no rio das Mortes e

59,4% na amostrada no rio Grande. Na cachoeira das Aranhas, esta proporção foi de 27%.

4.6 Implicações para a conservação genética da espécie

A variabilidade genética de *C. brasiliense* mostrou ser fortemente influenciada por fatores extrínsecos à espécie, nos habitats estudados. Nas populações amostradas em Mata Ciliar, o grau de preservação da matriz vegetacional de inserção, a conectividade e os fatores associados à antropização, como a retirada da vegetação, podem ser precursores de uma variação na distribuição das árvores e, por conseqüência, na variabilidade genética. Nas áreas de Floresta Paludosa, as populações estão restritas a poucos remanescentes, o que faz com que a variabilidade genética detectada seja conseqüência, provavelmente, da antropização, da falta de conectividade e da presença de umidade e saturação hídrica no interior dos mesmos. Nas populações amostradas em Mata de Galeria, a variabilidade genética demonstra que não só os efeitos ligados a antropização, mas também outros fatores, como a declividade e a presença de maciços rochosos, atuando como barreira ao fluxo gênico, podem influenciar a estrutura genética de *C. brasiliense*. Dessa forma, a variação nas estimativas de variabilidade genética, além de estar relacionada à antropização, pode também ser influenciada pelas características peculiares de cada habitat. Nos habitats Mata Ciliar e Floresta Paludosa, a ocorrência de endogamia dentro e entre as populações, as taxas de diversidade genética detectadas entre elas e as estimativas de fluxo gênico e tamanho efetivo refletem a fragilidade da espécie aos fatores que põem em risco a sua variabilidade genética. Como estes habitats demonstram-se mais degradados, pode-se supor que este estado esteja influenciando mais negativamente a variabilidade genética.

Assim, independente do tipo de hábitat, para garantir a conservação *in situ* das populações de *C. brasiliense*, intervenções a curto-prazo devem ser realizadas, como revegetação da área ciliar; cumprimento da legislação pertinente, incorporação de esquemas de incentivo, quanto à preservação e manutenção dos ecossistemas naturais e o estabelecimento de índices que possam estabelecer relações entre a conservação da vegetação e a valoração da bacia hidrográfica.

5 CONCLUSÕES

Nos três habitats analisados, *C. brasiliense* apresentou valores de variabilidade genética condizentes com as de outras espécies arbóreas tropicais e mostrou que sua preferência por solo com alta umidade e saturação hídrica influenciou diretamente na sua distribuição espacial e, conseqüentemente, na sua variabilidade genética e fluxo gênico.

Os ambientes de Mata Ciliar e Floresta Paludosa apresentam menor variabilidade genética e, por conseqüência, há ocorrência de endogamia dentro e também para o conjunto das suas populações.

Em todas as populações, a diversidade genética mostrou ser maior dentro das populações.

Nas populações estudadas, não foi detectada correlação entre identidade genética e distância geográfica e nem entre identidade genética e área de ocorrência.

O fluxo gênico mostrou não ser suficiente para se contrapor os efeitos de deriva genética.

A estimativa do coeficiente de coancestria, para todas as condições de ocorrência, mostra que quanto mais próximas as árvores nas populações, mais próximas elas são geneticamente.

O sistema reprodutivo indicou que o *C. brasiliense* se reproduz por cruzamento misto predominantemente por alogamia e que, no ambiente de Mata Ciliar, a maior parte das progênies é originada de cruzamentos biparentais (irmãos-completos) e no ambiente de Mata de Galeria grande parte por cruzamentos aleatórios (meios-irmãos).

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. T.; JOLY, R. J. Genetics of allozymes variants in Loblolly Pine. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 71, n. 1, p. 33-40, 1980.
- 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, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; FIGUEIRA, A. Mating system in natural population *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Shumm genetics and molecular. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p. 373-379, Sept. 2003.
- ANJOS, A. **Análise do padrão de distribuição espacial do palmiteiro (*Euterpe edulis*) utilizando a função K de Ripley**. 1998. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- ARAÚJO, G. M.; HARIDASAN, M. Estrutura fitossociológica de duas matas mesófilas semidecíduas em Uberlândia, Triângulo minério. **Naturalia**, São Paulo, v. 22, p. 115-129, 1997.
- BARNES, B. V.; ZAK, D. R.; DENTON, S. R.; SPURR, S. H. **Forest ecology**. 4. ed. John Wiley, 1997. 774 p.
- BARRET, S. C. H.; Kohn, J. R. Genetic and evolutionary consequences of small populations size in plants: implications for conservation. In: FALK, D. A.; HOLSINGER, K. E. (Ed.). **Genetic and Conservation of Rare Plants**. New York: Oxford University Press, 1991. p. 3-30.
- BARRET, S. C. H.; HUSBAND, B. C. The genetics of plant migration and colonization. In: BROWN, A. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 254-277.
- BASTOS, A. de M. As madeiras do Pará. **Arquivos do Serviço Florestal**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p. 157-182, 1946.

BAWA, K. S. Breeding of tropical hardwoods: a evolution of underlying bases, current status and future prospect. In: BURLEY, J.; STYLES, B. T. (Ed.). **Tropical trees: Variation, Breeding and Conservation**. London: Academic Press, 1976. p. 43-60.

BAWA, K. S.; O'MALLEY, D. M. Estudos genéticos y de sistemas de cruzamiento en algunas especies arbóreas de bosques tropicales. **Revista de Biología Tropical**, San Jose, v. 35, p. 177-188, 1987. Supplement.

BENITEZ RAMOS, R. F.; MONTESINOS LAGOS, J. L. **Catalogo de ciem especies forestales de Honduras: distribución, propiedades y usos**. Siguatepeque: Escuela Nacional de Ciencias Forestales, 1988. 200 p.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 415-424, Mar. 1997.

BERTONI, J. E.; MARTINS, F. R. Composição florística de uma floresta ripária na Reserva Estadual de Porto Ferreira. SP. **Acta Botânica Brasílica**, São Carlos, v. 1, n. 1, p. 17-26, jan./abr. 1987.

BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. Variabilidade genética em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 621-627, out./dez. 2004.

BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 15, n. 168, p. 15-20, 1991.

BROWN, A. H. D. Enzymes polymorphisms in plant populations. **Theoretical Population Biology**, San Diego, v. 15, n. 1, p. 1-42, 1979.

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

CARVALHO, D. A. de; OLIVEIRA-FILHO, A. T. de; VILELA, E. de A. Flora arbustivo-arbórea de mata ripária do médio Rio Grande (Conquista, Estado de Minas Gerais). **Cerne**, Lavras, v. 2, n. 2, p. 48-68, 1996.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa-CNPQ, 1994. 640 p.

CASIVA, P. V.; VILARDI, J. C.; CIALDELLA, A. M.; SAIDMAN, B. O. Mating system and population structure of *Acacia aroma* and *A. macracantha* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 1, p. 58-64, Jan. 2004.

CASTRO, G. C. **Análise da estrutura, diversidade florística e variações espaciais do componente arbóreo de corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande, MG.** 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHELIAK, W. M.; PITEL, J. A. Inheritance and linkage of allozymes in *Larix laricina*. **Silvae Genética** Frankfurt, v. 34, n. 4/5, p. 142-148, 1985.

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

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

CRAWFORD, D. J. Enzyme electrophoresis and plant systematics. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (Ed.). **Isozyme and plant biology**. London: Chapman and Hall, 1989, p. 146-164.

CRAWLEY, M. J. The structure of plant communities. In: CRAWLEY, M. J. **Plant ecology**. Blackwell Scientific Publications, 1986. p. 1-50.

CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the Natural Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 81, n. 19, p. 6. 073-6. 077, 1984.

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

DE GRANDE, D. A. Plantas da restinga da Ilha do Cardoso (São Paulo-Brasil). **Hoehnea**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 1-22, dez. 1981.

DEGEN, B. Genetic **Data analysis and numerical test, version 1. 0 (GDA_NT)**. Cedex: INRA Station de Recherches Forestières, 2003. Disponível em: <http://korov.cirad.fr/genetique>>. Acesso em: 2006.

DEWEY, S. E.; HEYWOOD, J. S. Spatial Genetic Estruture in a Population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of Genotypes. **Evolution**, Lawrence, v. 42, n. 4, p. 834-838, July 1988.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y. Variação genética em espécies arbóreas e conseqüências para o melhoramento florestal. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 3, n. 3, p. 119-27, set./dez. 1991.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M. A. de O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas & Letras, 1997. 65 p.

DURIGAN, G.; LEITÃO-FILHO, H. F. "Florística e Fitossociologia de Matas Ciliares do Oeste Paulista". **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 197-239, dez. 1995.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. **Recomposição de matas ciliares**. São Paulo: Instituto Florestal, 1990. 14 p. (IF. Série Registros, 4).

EGUIARTE, L. E.; BURQUEZ, A.; RODRÍGUEZ, J., MARTÍNEZ-RAMOS, M., SARUKHÁN, J.; PIÑERO, D. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. **Evolution**, Lawrence, v. 47, n. 1, p. 75-87, Feb. 1993

ENCARNACIÓN, F. **Nomenclatura de las especies forestales comunes en el Peru**. Lima: FAO, 1983. 149 p. (PNUD / FAO / PER / 81 / 002. Documento de Trabajo, 7).

ERICKSON, D. L.; HAMRICK, J. L. Genetic and clonal diversity for *Myrica cerifera* along a spatiotemporal island chronosequence. **Heredity**, London, v. 90, n. 1, p. 25-32, Jan. 2003.

FELFILI, J. M. Determinação de Padrões de Distribuição de Espécies em uma Mata de Galeria no Brasil Central, com a utilização de Técnicas de Análise Multivariada. **Boletim do Herbario Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v. 2, p. 35-48, 1998.

FELFILI, J. M. Diversity, Structure and Dynamics of a Galery Forest in Central Brazil. **Vegetatio**, Dordrecht, v. 117, n. 1, p. 1-15, Mar. 1995.

FELFILI, J. M. Floristic Composition and Phytosociology of the Gallery Forest Alongside the Gama Stream in Brasília, DF, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 1-11, 1994

FELFILI, J. M.; SILVA JÚNIOR, M. C. “Floristic Composition, Phytosociology and Comparison of Cerrado and Gallery Forest at Fazenda Água Limpa, Federal District Brazil”. In: FURLEY, P. A.; RATTER, J. A. **Nature and Dynamics of Forest-savanna Boundaries**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 393-415.

FERREIRA, A. B. de H. **Novo dicionário da língua portuguesa**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1975. 1499 p.

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

FIGUEIREDO, N. **Rezadores, pajés & puçangas**. Belém: Universidade Federal do Pará, 1979. 53 p. (Universidade Federal do Pará. Série Pesquisa, 8).

FISHER, E.; SANTOS, F. A. M. Demography, phenology and sex of *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) trees in the Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology**. Cambridge University Press, v. 17, 903-909 p., 2001.

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

FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.

FREIRE – MAIA, N. **Genética de populações humanas**. São Paulo: HUCITEC/EDUSP, 1974.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa de vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro, 1988. 1 mapa color., 1,08cm x 1,19 cm. Escala 1:5. 000. 000

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

GALETTI, M. R. Os frugívoros da Santa Genebra. In: MORELLATO, P. C.; LEITÃO FILHO, H. F. (Org.). **Ecologia e preservação de uma floresta**

urbana: Reserva de Santa Genebra. Campinas: Ed. da UNICAMP, 1995. p. 66-69.

GALETTI, M. R. **Sazonalidade na dieta de vertebrados frugívoros em uma floresta semidecídua no Brasil.** 1992. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GANDARA, F. B. **Diversidade Genética, Taxa de Cruzamento e Estrutura Espacial dos Genótipos em Uma População de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae).** 1996. 69 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas.

GENTRY, A. H. Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. **Annals of Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 75, n. 1, p. 1-34, 1988.

GIBSON, J. P.; WHEELWRIGHT, N. T. Genetic structure in a population of a tropical tree *Ocotea tenera* (Lauraceae): influence of avian seed dispersal. **Oecologia**, New York, v. 103, n. 1, p. 49-54, July 1995.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isozyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 135-141, Aug. 1989.

GIUDICE NETO, J. D. **Estrutura genética por isoenzimas em populações naturais de Jacarandá Paulista (*Machaerium villosum* Vog.).** 1999. 128 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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

GREGORIUS, H. R. Genetischer Abstand zwischen Populationen. I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, n. 1, p. 22-27, 1974.

GUIMARÃES, E. F.; MAUTONE, L.; MATTOS FILHO, A. de. Considerações sobre a floresta pluvial baixo-montana: composição florística em área remanescente no Município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro. **Boletim da Fundação Brasileira para Conservação da Natureza**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 45-53, 1988.

GUSSON, E. **Uso e diversidade genética em populações naturais de biriba (*Eschweilera ovata* [Cambess.] Miers: subsídios ao manejo e conservação da espécie**. 2003. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Eschweilera ovata*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 67, p. 123-135, abr. 2005.

HALL, P.; ORRELL, L. C.; BAWA, K. S. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 81, n. 9, p. 1104-1111, Sept. 1994.

HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. S. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 757-768, June 1996.

HALL, R. B. W.; HARCOME, P. A. “Flooding Alters Apparent Position of Floodplain Saplings on a Light Gradient”. **Ecology**, Lawrence, v. 79, n. 3, p. 847-855, Apr. 1998.

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

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

HAMRICK, J. L.; NASON, J. D. Consequenses of dispersal in plants. In: RHODES, O. F.; CHESSER, R. K.; SMITH, M. H. (Ed.). **Populations dynamics in ecological space and time**. Chicago: University of Chicago Press, Chicago, 1996. p. 203-236.

HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDi 1. 2: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v. 2, p. 618-620. Disponível em: <<http://www.ulb.ac.be/sciences/lagev/software.html>>. Acesso em: 24 mar. 2006.

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

HENRIQUES, R. P. B.; ARAÚJO, D. S. D. de; HAY, J. D. Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 173-189, dez. 1986.

HOEBEE, S. E.; YOUNG, A. G. Low neighbourhood size and high interpopulation differentiation in the endangered shrub *Grevillea iaspicula* McGill (Proteaceae). **Heredity**, London, v. 88, n. 4, p. 489-496, Apr. 2001.

HOLDRIDGE, L. R.; POVEDA, L. S. **Arboles de Costa Rica**. San José: Centro Científico Tropical, 1975. 546 p.

HUBBELL, S. P. Seed predation and the coexistence of tree species in tropical forest. **Oikos**, Copenhagen, v. 35, n. 2, p. 214-229, 1980.

IBGE. **Mapa de Vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Ministério da Agricultura, 1993.

IVANAUSKAS, N. M.; RODRIGUES, R. R.; NAVES, G. Fitossociologia e seletividade de espécies numa floresta de brejo em Itatinga, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 139-153, jun. 1997.

JAEGER, P. **Caracterização genética e demográfica de populações de *Xylopia emarginada* Mart. (Anonáceae)**. 2004. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

JANZEN, D. H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. **American Naturalist**, Chicago, v. 104, n. 940, p. 501-528, 1970.

KAGEYAMA, P. Y. Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidrelétricas da CESP. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 8, n. 25, p. 1-43, out. 1992. Inclui trabalhos da Equipe Técnica Convênio CESP / ESALQ / IPEF.

KAGEYAMA, P. Y.; CUNHA, G. C.; BARRETO, K. D.; GANDARA, F. B.; CAMARGO, F. R. A.; SEBBENN, A. M. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 108-119, dez. 2003a.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 12, n. 32, p. 65-70, dez. 1998.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Dinâmica de populações de espécies arbóreas: implicações para o manejo e a conservação. In: CONGRESSO DE ECOSISTEMAS DA COSTA BRASILEIRA, 3., 1993. **Anais...** Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 1993. p. 115-125.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Recuperação de áreas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO-FILHO, H. F. **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo, 2000. p. 249-269.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCOSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 93-107, dez. 2003b.

KAWAGUICI, C. B. **Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae), em mata de galeria**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

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 Forestales**, Piracicaba, n. 59, p. 131-143, jun. 2001.

KAWAGUICI, C. B.; SCHIAVINI, I. Crescimento e sobrevivência de uma população de *Calophyllum brasiliense* Camb. em mata de galeria no Triângulo Mineiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: FFCLRP/Universidade de São Paulo, 1995. p. 326.

KEVIN, K.; NG, S.; LEE, L.; KOH, L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 657-669, May 2004.

KILLEAN, T. J.; GARCIA, E. E.; BECK, S. G. **Guia de arboles de Bolívia**. La Paz: Herbario Nacional de Bolívia / St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1993. 958 p.

KIMURA, M. The neutral theory as a basis for understanding the mechanism of evolution and variation at the molecular level. In: KIMURA, M. (Ed.). **Molecular evolution, protein polymorphism and the neutral theory**. Tokyo: Japan Scientific Societies, 1982. p. 3-56.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, n. 1, p. 25-37, 2001.

LACERDA, C. M. B.; KAGEYAMA, P. Y.; FERRAZ, E. M. Diversidade genética em *Myracrodruon urundeuva* em duas situações antrópicas no semi-árido. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 55, p. 89-96, jun. 1999.

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

LEE, S. L. Mating system parameters in a tropical tree species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian Lowland dipterocarp forest. **Biotropica**, Washington, v. 32, n. 4a, p. 693-702, Dec. 2000.

LEE, S. -L.; NG, K. K. -S.; SAW, L. -G.; NORWATI, A.; SALWANA, M. H. S.; LEE, C. -T.; NORWATI, M. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia. **American Journal of Botany**, v. 89, p. 447-459, 2002.

LEITÃO-FILHO, H. F. Aspectos taxonômicos das florestas do estado de São Paulo. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v. 16A, n. 1, p. 197-206, set. 1982.

LEME, M. C. J.; DURIGAN, M. E.; RAMOS, A. Avaliação do potencial forrageiro de espécies florestais. In: SEMINÁRIO SOBRE SISTEMAS AGROFLORESTAIS NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 1994, Colombo. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994. p. 147-155. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 26).

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

LEVIN, D. A. Dispersal versus gene flow in plants. **Annals of Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 68, n. 2, p. 233-253, 1981.

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. <<http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>>. Acesso em: 2006.

LIMA, D. de A.; ROCHA, M. G. Observações preliminares sobre a Mata do Buraquinho, João Pessoa, Paraíba. **Anais do Instituto de Ciências Biológicas**, Recife, v. 1, n. 1, p. 47-61, 1971.

LIMA, W. P. Função hidrológica da mata ciliar. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, 1., 1989, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1989. p. 20-24.

LITTLE JUNIOR, E. L.; DIXON, R. G. **Arboles comunes de la provincia de Esmeraldas, Ecuador**. Washington: Peace Corps, 1983. 536 p.

LOBO, P. C.; MARQUES, M. C. M.; LIEBERG, S.; JOLY, C. A. Projeto Jacaré-Pepira. III. Aspectos sobre a germinação e o estabelecimento de plantas de três espécies ocorrentes na Bacia do rio Jacaré-Pepira, Brotas, SP. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: FFCLRP / Universidade de São Paulo, 1995. p. 320.

LOISELLE, B. A.; SORK, V. L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 11, p. 1420-1425, Nov. 1995.

LOPEZ, J. A.; LITTLE JUNIOR, E. L.; RITZ, G. F.; ROMBOLD, J. S.; HAHN, W. J. **Arboles comunes del Paraguay**: ñande yvyra mata kuera. Washington: Cuerpo de Paz, 1987. 425 p.

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

LUNA, R.; EPPERSON, B. K.; OYAMA, K. Spatial genetic structure of two sympatric neotropical palms with contrasting life histories. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 298-305, Oct. 2005.

MALTEZ H. M. **Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. – Apocynaceae (Peroba Rosa) em uma floresta estacional semidecidual no Estado de São Paulo.** 1997. 132 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology.** London: Chapman & Hall, 1997.

MARKERT, 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**, Washington, v. 45, n. 5, p. 753-763, 1959.

MARQUARDT, P. E.; EPPERSON, B. K. Spatial and population genetic structure of microsatellites in white pine. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 11, p. 3305-3315, Nov. 2004.

MARQUES, M. C. M. **Estudos auto-ecológicos do guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. Clusiaceae) em uma mata ciliar do Município de Brotas, SP.** 1994. 92 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MARQUES, M. C. M.; FISCHER, E. Quiropterocoria em *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1996, Nova Friburgo. **Resumos...** Rio de Janeiro: Sociedade Botânica do Brasil, 1996. p. 417.

MARQUES, M. C. M.; JOLY, C. A. Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 113-120, jan./mar. 2000.

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 71-78, abr. 1987.

MEGURO, M.; PIRANI, J. R.; MELLO-SILVA, R.; GIULIETTI, A. M. “Caracterização florística e estrutural das matas ripárias e capões de altitude da Serra do Cipó, Minas Gerais”. **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 15, p. 13-29, 1996.

MELO JUNIOR, A. F. de **Variabilidade genética em populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) caracterizada por meio de isoenzima**. 2003. 82 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

METTLER, L. E.; GREGG, T. G. **Genética de populações e evolução**. São Paulo: Polígono/EDUSP, 1973. 262 p.

METZGER, J. P.; BERNACCI, L. C.; GOLDENBERG, R. “Pattern of tree species diversity in Riparian Forest Fragments of different widths (SE Brazil)”. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 133, n. 2, p. 135-152, Dec. 1997.

MILLER, M. **Tools For Populations Genetic Analyses (TFPGA) 1. 3:** A windows program for analyses of allozyme and molecular population genetic data. Distribuído pelo autor, 1997

MITTON, J. B. The dynamic mating systems of conifers. In: Population genetics of forest trees. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POPULATION GENETICS OF FOREST TREES, 1992, Dordrecht. **Proceeding...** Dordrecht: Kluwer Verlag, 1992. p. 197-216.

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Correlated mating in dioecious tropical tree species, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 11, n. 1, p. 53-59, 2004.

MORAES, P. L. R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees (Lauraceae)**. 1997. 190 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro.

MORAES, P. L. R.; MONTEIRO, R.; VENCOSKY, R. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 237-248, out. 1999. Supplement, 2.

- MORAES, P. L. R.; MONTEIRO, R.; VENCOVSKY, R. Estrutura genética intrapopulacional em *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 475-487, jul./set. 2004.
- MORELLATO, L. P. C.; HADDAD, C. F. B. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, St. Louis, v. 32, n. 4B, p. 786-792, Dec. 2000.
- MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Essex, v. 67, n. 2, p. 167-174, Oct. 1991.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L.; HUBBEL, S. P.; FOSTER, R. B. Mating system os two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. **Oecologia**, New York, v. 82, n. 4, p. 501-506, 1990.
- MURPHY, P. G.; LUGO, A. Ecology of tropical dry Forest. **Annual Review Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 67-88, 1986.
- MURPHY, R. W.; SITES, J. W. Jr., BUTH, D. G.; HAUFLER, C. H. **Proteins I: isozyme electrophoresis**. In: D. M.; MORITZ, C. **Molecular Systematics Hillis**, (Ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1990. p. 45-126.
- MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand. - Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, Essex, v. 89, n. 4, p. 273-279, Oct. 2002.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Madison, v. 89, n. 3, p. 586-590, 1978.
- NEI, M. *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of Human Genetics**, New York, v. 41, n. 10, p. 225-233, Oct. 1977.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, Chicago, v. 106, n. 949, p. 283-292, 1972.

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

NEI, M. **Molecular populations genetics and evolution**. Amsterdam: North-Holland Publishing, 1975.

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

NUNNEY, L.; CAMPBELL, K. A. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. **Trends in Ecology, & Evolution**, Victoria, v. 8, n. 7, p. 234-239, July 1993.

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

OLIVEIRA, A. F.; CARVALHO, D.; ROSADO, S. C. S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 331-338, abr./jun. 2002.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A. “A Study of the Origin of Central Brazilian Forests by the Analysis of Plant Species Distribution Patterns”. **Edinburgh Journal of Botany**, Edinburgh, v. 52, n. 2, p. 141-194, 1995.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A.; SHEPHERD, G. J. “Floristic Composition and Community Structure of a Central Brazilia Gallery Forest”. **Flora**, Jena, v. 184, n. 2, p. 103-117, 1990.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; VILELA, E. A.; GAVILANES, M. L.; CARVALHO, D. A. “Comparation of the Woody Flora and soils of six áreas montane semideciduos Forest in Southern Minas Gerais, Brazil”. **Edinburgh Journal of Botany**, Edinburgh, v. 51, n. 3, p. 355-389, 1994.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; VILELA, E. A.; GAVILANES, M. L.; CARVALHO, D. A. **Estudos florísticos e fitossociológicos em remanescentes de Matas Ciliares do Alto e Médio Rio Grande**. Belo Horizonte, 1995. 27 p.

PASA, M. C.; GUARIM NETO, G.; GUARIM, V. L. M. S.; SILVA, J. V. B. da. Repertório etnobotânico do guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. - Guttiferae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51., 2000, Brasília. **Resumos...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. p. 200.

PASCHOAL, M. E. S.; CAVASSAN, O. A flora arbórea da mata de brejo do Ribeirão Peliantra, Agudos – SP. **Naturalia**, São Paulo, v. 4, p. 171-191, 1999.
PEDRALLI, G.; TEIXEIRA, M. C. B. Reservatórios: alternativas para proteção das comunidades vegetais na sua área de influência. In: Ensaio e Dissertações. **A água em Revista**, Belo Horizonte, v. 5, n. 8, p. 34-41, 1997.

PERRY, D. J.; BOUSQUET, J. Genetic diversity and mating system of post-fire and post-harvest black spruce: an investigation using codominant sequence-tagged-site (STS) markers. **Canadian Journal forest Research**, Ottawa, v. 31, n. 1, p. 32-40, Jan. 2001.

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, jul./set. 2004.

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

POORTER, L.; BONGERS, F. **Ecology of tropical forests**. Department of Forestry. Wageningen Agricultural University, 1993.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP; Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 320 p.

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

RANGEL CH., J. O.; LOWY C., P. D.; AGUILAR PUENTES, M.; GARZON-C., A.; HAMMEN, T. van der. **Colombia diversidad biotica II: tipos de vegetacion en Colombia**. Santafe de Bogota: Universidad Nacional de Colombia, 1997. 436 p.

REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* Martius)**. 1996. 203 p.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira de Santa Catarina. **Sellowia**, Itajaí, n. 28/30, p. 3-320, 1978.

RIBAS, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética em uma população de *Trema micrantha* (L.) B. Considerando diferentes estádios de vida. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 176-187, jun. 2004.

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 73-81, mar. 2004.

RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 3, p. 418-424, Sept. 2004.

RIBEIRO, K. T.; MORAES, L. F. D.; SCARANO, F. R. Germinação e estabelecimento de *Calophyllum brasiliense* Camb. em terreno irregular de floresta Atlântica inundável. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. **Resumos**. Ribeirão Preto: FFCLRP / Universidade de São Paulo, 1995. p. 165.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. “Fisionomias do Bioma Cerrado”. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Cords.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

RICHARDS, P. W. **The tropical rain forest: an ecological study**. 2. ed. Cambridge: university Press, 1996. 575 p.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus Guttatus*. **Evolution**, v.43, n.4, p. 848-859, 1989.

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

RITLAND, K. Multilocus mating system program. **MLTR**. Version 1. 1. University of Toronto, Canadá, 1997.

RITLAND, K.; EL-KASSABY, Y. A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 71, n. 3, p. 371-384, 1985.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequency using independent loci. **Heredity**, London, v. 47, p. 35-52, Aug. 1981.

RODRIGUES, R. R. **Análise da Vegetação às margens do Rio Passa Cinco Ipeúna, SP**. 1992. 334 p. Tese (Doutoramento) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia Campinas, Campinas.

RODRIGUES, R. R. Uma discussão nomenclatural das formações ciliares. *In*: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO-FILHO, H. F. **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo, 2000. p. 91-107.

RONDON NETO, R. M.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; FONTES, M. A. L.; FARIA, J. M. R. Estudos básicos para propostas de tratamentos silviculturais para acelerar o processo de recomposição da vegetação de uma clareira de formação antrópica, em Lavras, MG - Brasil. *In*: CICLO DE ATUALIZAÇÃO FLORESTAL DO CONE-SUL, 1999, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1999. p. 165-176.

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

SAMPSON, J. F. Multiple paternity in *Eucalyptus rameliana* (Myrtaceae). **Heredity**, London, v. 81, n. 3, p. 349-355, Sept. 1998.

SARMIENTO, G. Ecological and floristic convergences between seasonal plant formations of tropical and subtropical South America. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 367-410, 1972.

SCARANO, F. R.; RIBEIRO, K. T.; MORAES, L. F. D.; LIMA, H. C. "Plant Establishment on Flooded and Unflooded Patches of a Freshwater Forest in Southeastern Brazil". **Journal Tropical Ecology**, New York, v. 14, n. 6, p. 793-803, Nov. 1997.

SEBBENN, A. M. **Distribuição da variação genética de populações de jequitibá-rosa [*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze] por caracteres quantitativos e isoenzimas**. 2001. 210 p. Tese (Doutorado em Genética e

Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

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

SEBBENN, A. M. Herança e ligação em locos de isoenzimas em *Genipa americana* L. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 65-72, mar. 2004.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; ZANATTO, A. C. E. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. : implicações para a conservação e melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 25-40, dez. 2000a.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Conservação genética *in situ* e numero de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 63, p. 13-22, jun. 2003.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; LACERDA, M. C. B. Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 13n n. 2, p. 99-113, dez. 2001.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 127-143, dez. 2000b.

SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 19-26, mar. 2001.

SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas em *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 57-63, mar. 2004.

SETSUKO, S.; ISHIDA, K.; TOMARU, N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 2645-2653, Sept. 2004.

SILVA, J. M.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Autocorrelação espacial em população natural de *Terminalia argentea* Mart et Succ. no cerrado de Selvíria, MS. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 66, p. 94-99, dez. 2004.

SILVA, S. M.; SILVA, F. C.; VIEIRA, A. O. S.; NAKAJIMA, J. N.; PIMENTA, J. A.; COLLI, S. “Composição florística e fitossociologia do componente arbóreo das florestas ciliares da Bacia do Rio Tibagi, Paraná: 2-Várzea do Rio Bitumirim, Município de Ipiranga, PR” **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 192-198, mar. 1992. Edição Especial.

SILVA JÚNIOR, M. C. da.; NOGUEIRA, P. E.; FELFILI, J. M. Flora lenhosa das matas de galeria no Brasil central. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v. 2, p. 57-75, 1998.

SIQUEIRA, D. R. et al. Physiognomy, structure and floristic in an área of Atlantic Forest in Northeast Brasil. In: GOTTSBERGER; LIEDE, S. (Ed.). **Life forms and strategies in Tropical Forest**. Diss Bot. V. 346, p. 11-27, 2001.

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

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

SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 1/3, p. 21-38, Aug. 2004.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W. H. Freeman, 1973.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Isozyme evidence for ancient polyploidy in primitive Angiosperms. **Systematic Botany, Bronx**, v. 15, n. 2, p. 328-337, Apr./June 1990.

SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, n. 5/6, p. 191-196, 2002.

- SOUZA, L. M. F. I. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP)** – Brasil. 1997. 76 p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. Estrutura genética de populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 70-79, jun. 2004.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St. -Hill. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v 26, n. 1, p. 113-121, jan./mar. 2003.
- SOUZA, P. C. A. **Aspectos ecológicos de uma população natural de *Euterpe oleracea* Mart. no estuário amazônico**. 2002. 60 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP.
- STRAUSS, S. H.; CONKLE, M. T. Segregation linkage and diversity of allozymes in knobcone pine. **Theoretica Applied Genetics**, Berlin, v. 72, n. 4, p. 483-493, 1986.
- SUN, M.; RITLAND, K. Mating system of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*), a successful colonizer in North America. **Heredity**, Essex, v. 80, n. 2, p. 225-232, Feb. 1998.
- SWOFFORD, D. L.; SELANDER, R. B. **Biosys-2**. a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Urbana: University of Illinois, 1997.
- TELLES, M. P. C.; VALVA, F. D.; BANDEIRA, L. F.; COELHO, A. S. G. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. – Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, jan./mar. 2003.
- TONIATO, M. T. Z.; LEITÃO FILHO, H. F.; RODRIGUES, R. R. Fitossociologia de um remanescente de floresta higrófila (mata de brejo) em Campinas, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 197-210, abr./jun. 1998.

- TORRES, R. B.; MATTHES, L. A. F.; RODRIGUES, R. R. Florística e estrutura do componente arbóreo de mata de brejo em Campinas, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 189-194, jun. 1994.
- 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. 1/3, p. 13-16, 1992.
- VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H. C. Structure of allozyme variation in Nordic *Silene nutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 81, n. 3, p. 357-371, Mar. 2004.
- VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1991. 123 p.
- VENCOVSKY, R. Análise de Variância de Frequências Alélicas. In: Congresso Latino Americano de Genética, Rio de Janeiro, Proceedings, **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 15, p. 53-60, 1992. Suplemento 1.
- VENCOVSKY, R.; DIAS, C. T. S.; DEMÉTRIO, C. G. B.; LEANDRO, R. A.; PIEDADE, S. M. S. Reamostragem por “bootstrap” na estimação de parâmetros baseados em marcadores genéticos. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 14., 1997, Local. **Anais...** Local, 1997. p. 59-72.
- VIEIRA, F. A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG**. 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- VILELA, E. de A.; OLIVEIRA FILHO, A. T. de.; GAVILANES, M. L.; CARVALHO, D. A. de. Espécies de matas ciliares com potencial para estudos de revegetação no alto Rio Grande, sul de Minas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 17, n. 2, p. 117-128, abr./jun. 1993.
- WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Washington, v. 35, n. 1, p. 235-254, 1979.
- WEIR, B. S. **Genetic data analysis**. Massachusetts, Sinauer, 1990. 377 p.

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

WHITLOCK, M. C.; McCAULEY, D. E. Some populations genetic consequences of colony formation and extinction genetic correlations within founding groups. **Evolution**, Lawrence, v. 44, n. 7, p. 1717-1724, Nov. 1990.

WORKMAN, P.; NISWANDER, J. L. Population studies on southwestern Indian Tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal of Human Genetic**, Chicago, v. 22, n. 1, p. 24-49, 1970.

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

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals Eugenics**, New York, v. 15, n. 4, p. 313-354, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, Lawrence, v. 19, n. 3, p. 395-420, 1965.

YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluation of the natural monement populations of *Camellia japonica* (Thearaceae) in Korea based on allozyme studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 37, p. 141-146, 1996.

YOUNG, A. G.; MERRIAN, H. G.; WARWICK, S. I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. **Heredity**, London, v. 71, n. 3, p. 277-289, Sept. 1993.