

ANA CECÍLIA GONÇALVES

**ESTRUTURA GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE
Dimorphandra mollis Benth. (FABACEAE)**

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

Orientadora
Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

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

Gonçalves, Ana Cecília.

Estrutura genética em populações naturais de *Dimorphandra mollis*
Benth. (Fabaceae) / Ana Cecília Gonçalves. -- Lavras : UFLA, 2006.
83 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2006.
Orientador: Dulcinéia de Carvalho.
Bibliografia.

1. Isoenzima. 2. População natural. 3. *Dimorphandra mollis*. 4.
Conservação genética. 5. Manejo. 6. Fava d'anta. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD – 634.973322

ANA CECÍLIA GONÇALVES

**ESTRUTURA GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE
Dimorphandra mollis Benth. (FABACEAE)**

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

APROVADA em 07 de março de 2006

Prof. Dr. José Roberto Soares Scolforo UFLA

Prof. Dr. Júlio Neil Cassa Louzada UFLA

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Grande Deusa e a Deus pela vida e por todas as oportunidades. Aos meus pais pela confiança e incentivo.

Agradeço a todos àqueles que contribuíram na execução deste trabalho seja de forma direta ou indireta, mas especialmente a: Profa. Dulcinéia de Carvalho que assumiu minha orientação mostrando-se além de uma incrível mulher, uma grande profissional muito preocupada com a ética da pesquisa na Universidade, ao Prof. José Roberto através do financiamento que viabilizou a realização deste trabalho e pelas contribuições através de seu olhar crítico quanto a ocupação do Cerrado e a geração de alternativas para o uso deste bioma tão ameaçado em Minas, ao Prof. Júlio Louzada pelas sugestões que enriqueceram a discussão. Ao Fábio Vieira, Cristiane Reis e a Márcinha pela tamanha contribuição, e todos do Laboratório de Melhoramento Florestal do DCF.

A uma pessoa muito especial que tem tido muita paciência ao longo destes anos comigo e que de alguma forma serei grata para sempre, Antonio Couto Jr., muito obrigada por tudo!

Aos meus amigos e amigas do DCF e da minha turma do mestrado, em especial Gentil, Daniel, Cláudio, Ferdinando, Simone, Gleyce e Marcela sempre aprendi muito com todos e todas, vocês moram no meu coração

A todos e todas que frequentaram a Fino Trato em especial Queta e Tati, valeu por todos os momentos que passamos juntas, eu amo vocês.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	
2.1 Fragmentação de florestas tropicais e perda de biodiversidade.....	4
2.2 Efeitos da fragmentação e do manejo na estrutura genética de populações naturais de espécies arbóreas.....	5
2.3 Cerrado – A savana brasileira.....	8
2.4 Descrição, ocorrência e potencialidades da <i>D. mollis</i>	11
2.6 Técnicas para estudo da diversidade genética.....	17
3.4.1 Variação genética intrapopulacional.....	30
3.4.2 Índices de diversidade genética.....	30
3.4.3 Estrutura genética das populações.....	32
3.4.4 Aderência das frequências genotípicas ao Equilíbrio de Hardy- Weinberg (EHW).....	34
3.5 Estimativa do fluxo gênico populacional.....	35
3.6 Estimativa do tamanho efetivo populacional.....	36
3.7 Distribuição espacial dos genótipos.....	37
4.1 Sistemas enzimáticos.....	39
4.2 Frequências alélicas.....	40
4.3 Índices de diversidade genética.....	44
4.4 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	47
4.5 Estrutura genética.....	49
4.6 Fluxo gênico aparente.....	53
4.7 Distribuição espacial dos genótipos.....	56
4.8 Tamanho efetivo.....	61
4.9 Subsídios ao manejo e à conservação genética de populações naturais de <i>D. mollis</i>	64
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

RESUMO

GONÇALVES, Ana Cecília. **ESTRUTURA (POPULAÇÕES NATURAIS DE *Dimorphandra mollis* Benth. (FABACEAE) 2006. 83 p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹**

Este trabalho procura mostrar a importância de uma espécie nativa do Cerrado *Dimorphandra mollis* Benth. conhecida popularmente como fava d'anta e que apresenta grande potencial econômico principalmente pela retirada de um princípio ativo, conhecido como rutina, de seus frutos. Devido à sua importância comercial, a espécie tem sido alvo de intensa exploração. Para minimizar os efeitos da exploração têm surgido diversas propostas para uma coleta mais ordenada, mas existem poucas informações com relação à biologia e genética da espécie. Para que programas de conservação sejam delineados, é necessário que se conheça os níveis de variação genética existentes em suas populações naturais. Assim, realizou-se o estudo da estrutura genética e da distribuição espacial por meio de marcadores moleculares (isoenzimas) em populações naturais de *D. mollis*. A partir dos dados de 180 indivíduos, distribuídos em três populações naturais localizadas no norte de Minas Gerais, Brasil, foi feita a caracterização genética da espécie. Os resultados obtidos por marcadores isoenzimáticos indicam alta variabilidade genética para a espécie ($\hat{H}_e = 0,464$ e $\hat{H}_o = 0,4715$). A análise da estrutura genética indicou que a maior parte da variabilidade genética da espécie encontra-se dentro de suas populações ($\hat{\theta}_p = 0,025$). Verificou-se a ausência de endogamia dentro das populações ($\hat{f} = -0,018$) e para o conjunto das populações ($\hat{F} = 0,007$). O fluxo gênico estimado para o conjunto das populações foi alto, com \hat{Nm} igual a 4,0. O tamanho efetivo para o conjunto das populações foi igual a 43, que é o número mínimo de matrizes indicado para a coleta de sementes. A análise da estrutura genética espacial mostrou estruturação dos genótipos nas populações Campina Verde e Vargem Grande. A população Pau de Fruta não apresentou estruturação espacial dos genótipos. A estimativa da correlação de Mantel entre as matrizes de distâncias genética e geográfica foi positiva e significativa ($r = 0,81$), sugerindo que as populações Pau de Fruta e Campina Verde podem estar se diferenciando por um processo estocástico, com fluxo gênico dependente da distância.

¹ Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora)

ABSTRACT

GONÇALVES, Ana Cecília. **Genetic variability of *Dimorphandra mollis* Benth (Fabaceae) in nature population.** 2006. 83 p. (Paper – Forest Engineering Master's) – Universidade Federal de Lavras, UFLA - MG².

D. mollis, is an native species of Cerrado, know as fava d'anta and has an important economic value due its active principle as Rutin. This species has been terget of intense exploration due mainly to its commercial importance. Many proposes to minimize the exploration effects have been proposed, but little is a know about this species. To delineate conservation programs, it is necessary to know the genetic variation levels in the natural population. Then, the study of the genetic variation and the genotypes special distribution was carried through using molecular markers. The genetic characterization of the species was done from the data of 180 individuals, distributed in three natural populations located in the north of Minas Gerais, Brasil. The results indicates high genetic variability for especie ($\hat{H}_e = 0,464$ e $\hat{H}_o = 0,4715$). The analysis of the genetic structure indicated that most of the genetic variability of the species is within of its natural populations ($\hat{\theta}_p = 0,025$). It was verified absense of endogamia within the populations ($\hat{f} = -0,018$) and for the set of the populations ($\hat{F} = 0,007$). The gene flow was high, with $\hat{Nm} = 4,0$. The effect size for the set of the populations was 43 that it is the minimum number of matrices used to the collection of seeds. The analysis of the genetic structure showed that there is space structuration in one population. The other two populations, Campina Verde and Pau de Fruta didn't show genotypes structuration. The estimate of the correlation of Mantel between the matrices of genetic and geographic distances was positive and significant ($r = 0,81$), suggesting that the Pau de Fruta e Campina Verde populations can be differentiating by a a random process, with depending on the distance.

² Supervising Commitee:Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Main Supervisor)

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado, ou Savana Brasileira constitui uma grande fonte de recursos biológicos de fauna e flora, ocupando aproximadamente 22% do território nacional, dos quais 90% estão situados nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Bahia (Fonseca, 2000). Em Minas Gerais 53% da cobertura vegetal é representada por este bioma. É um bioma com grande disponibilidade de recursos e componentes naturais renováveis, que podem gerar ocupação permanente para um número determinado de pessoas e, demanda estudo de seus elementos arbóreos e arbustivos, que detêm substâncias aromáticas, tintoriais, oleaginosas e medicinais, entre outras de grande interesse econômico.

A exploração dos recursos naturais, nesse bioma, normalmente é caracterizada pelo uso inadequado e insustentável da flora e fauna nativa, associada à falta de políticas públicas eficientes e operacionais para a conservação da natureza, o que vem aumentando o risco de extinção de um grande número de populações naturais de espécies arbóreas. Tal fato compromete evolutivamente as espécies, em função da diminuição da variabilidade genética de populações naturais e pela interrupção do fluxo gênico, ou seja, pela diminuição do intercâmbio de alelos entre populações. Conseqüentemente, poderá haver redução da capacidade dessas populações naturais em se adaptarem às mudanças adversas.

O processo fragmentação ocorre em vários biomas brasileiros e, segundo estudos do comportamento das espécies, do fluxo gênico, da migração e de extinção, inúmeros indivíduos e populações de espécies já foram perdidos. Em virtude desta realidade, existe uma necessidade urgente de que estudos genéticos em populações naturais sejam realizados, para que sejam estabelecidas estratégias apropriadas de conservação da diversidade genética, de uso e de

manejo adequado. Porém, torna-se necessária a conjugação de esforços *in situ* e *ex situ* para que essa rica flora se conserve.

Dentro deste contexto, a espécie *Dimorphandra mollis* Benth., conhecida vulgarmente como favela, faveira ou fava d'anta, apresenta-se potencialmente adequada para esses estudos. Esta espécie é muito explorada no Cerrado pela sua capacidade de sintetizar, em suas favas, princípios ativos como a Rutina, que são amplamente procurados pela indústria farmacêutica e cosmética, tanto no mercado nacional como internacional.

Contudo, a falta de manejo da *D. mollis* pode levar a uma perda considerável no número de indivíduos em função da má condução e não adoção de critérios para a colheita das favas, ocasionando mutilação das plantas. A coleta de frutos sem um plano de conservação genética e de manejo adequado, pode resultar no estreitamento da variabilidade devido às restrições na disseminação de sementes e, conseqüentemente, com reflexos nos níveis de propagação e regeneração natural da espécie.

Assim, considerando que o conhecimento da estrutura e da diversidade genética de uma espécie, bem como a compreensão de outros fatores relacionados, é um ponto chave para a adoção de estratégias de manejo mais adequadas para a sua conservação genética, objetivamos com este trabalho gerar informações que possam ser utilizadas para a manutenção e conservação de *D. mollis*. De maneira específica, este trabalho teve como finalidade:

- i. descrever os níveis de variabilidade genética intrapopulacional em três populações naturais de *D. mollis*, utilizando-se técnicas de isoenzimas como marcador molecular;
- ii. estudar a distribuição da variabilidade entre e dentro das populações naturais, de modo a fornecer informações para

- programas de conservação e posterior melhoramento genético da espécie;
- iii. estimar o fluxo gênico e o tamanho efetivo das populações;
 - iv. verificar a existência de estruturação genética espacial nessas populações;
 - v. gerar subsídios para o manejo da espécie.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fragmentação de florestas tropicais e perda de biodiversidade

A expansão da população humana e suas atividades têm resultado na degradação, fragmentação e destruição dos habitats a tal ponto, que se torna a maior causa da perda de biodiversidade do planeta. A fragmentação do habitat resulta na quebra da continuidade da distribuição da vegetação original, reduzindo a quantidade de nichos disponíveis à flora e fauna, e acrescenta bordas a uma paisagem originalmente contínua (Fonseca, 2000).

A avaliação das conseqüências da redução e isolamento de populações é fundamental para prever o destino de espécies em fragmentos florestais e para o planejamento efetivo de programas de manejo em pequenas áreas de floresta. Essa avaliação é uma tarefa complexa, porque o efeito da fragmentação pode se estender indiretamente por meio de uma rede de interações interespecíficas e a mais crítica dessas interações talvez seja aquela que afeta diretamente o sucesso reprodutivo (Bacles et al., 2004; Dick et al., 2003; Dutech et al., 2005; Ward et al., 2005). O processo de polinização, por exemplo, pode ser interrompido pela fragmentação florestal, mediante efeitos diretos e indiretos nas plantas e polinizadores, resultando em prejuízos para as espécies vegetais, tais como redução e isolamento de populações de plantas e perda da variabilidade (Murcia, 1996).

Tanto fatores naturais como antrópicos têm influenciado e modificado padrões de vegetação, tendo como conseqüência a fragmentação, levando a diminuição da diversidade biológica, e estabelecendo distúrbios entre as interações dos fatores físicos

(topografia, pluviometria, geologia), biológicos e sociais, (Cunningham 2001).

2.2 Efeitos da fragmentação e do manejo na estrutura genética de populações naturais de espécies arbóreas

Uma espécie é formada por populações espalhadas por sua área de distribuição geográfica. Essas populações naturais são fontes de germoplasma para programas de melhoramento genético e também são as unidades sobre as quais incide o manejo para a produção ou conservação dos recursos naturais (Robinson, 1998).

No entanto, os ecossistemas, nos quais as populações naturais estão inseridas, vêm sofrendo diversas alterações, principalmente devido às atividades humanas. Tais mudanças resultam em ecossistemas fragmentados, formando mosaicos de vegetação remanescentes, mergulhados numa matriz antropizada. Nesse processo, grandes populações são reduzidas e subdivididas, o que pode acarretar alterações em processos ecológicos e genéticos, como na riqueza e composição de espécies (Murcia, 1995), no comportamento de polinizadores e dispersores, no sistema de reprodução e no fluxo gênico.

Com relação à diversidade biológica, observa-se a extinção de populações de espécies devido à redução na diversidade e tamanho populacional da flora e fauna, aumento dos níveis de endogamia nas populações, modificações nas interações bióticas (polinização, dispersão de sementes, predação, herbivoria e competição) e abióticas (temperatura do ar, intensidade luminosa e composição do solo).

As respostas das espécies vegetais ao processo de fragmentação são altamente variáveis, dependendo das características das mesmas e das alterações ambientais ocorridas (Lowe et al., 2005). Em algumas espécies de plantas, por

exemplo, foi observado que a fragmentação não levou ao aumento da divergência entre as populações, nem à redução na variação genética e heterozigidade dentro de populações e nem nos níveis de fluxo gênico entre os fragmentos (Dick et al., 2003; González-Astorga & Núñez-Farfán, 2001; Sun, 1996; White et al., 2002; Young et al., 1993). Foré et al. (1992) discutem que a diversidade genética e estrutura podem ser alteradas se a fragmentação florestal modificar os padrões de dispersão de pólen e sementes.

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

Muitas espécies podem ter populações muito pequenas para serem viáveis em longo prazo e numerosas espécies, ainda presentes nos fragmentos,

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

Após o processo de fragmentação, populações remanescentes apresentam um número de indivíduos menor e se esse for abaixo do número mínimo adequado (\hat{N}_e mínimo) pode ocorrer, em curto prazo, deriva genética, o que significa ter as frequências de seus alelos afastadas daquelas da população original, podendo ocorrer a perda de alelos. Em longo prazo, pode haver um aumento da endogamia, decorrente da maior probabilidade de autofecundação e cruzamentos entre indivíduos aparentados (Kageyama et al., 1998; Keller & Waller, 2002).

Além do processo de fragmentação, o manejo florestal também pode ser responsável pelas alterações nas populações naturais. Segundo Ratnam & Boyle (2000), as atividades humanas modificam o tamanho e a estrutura da população, tanto da espécie manejada como das outras espécies associadas a ela, alterando sua estrutura genética e seus níveis de diversidade. Jennings et al. (2001) consideram que o manejo pode resultar diretamente na perda de diversidade genética, podendo levar à perda de alelos (especialmente alelos raros) e promovendo um efeito conhecido como gargalo genético, que é o afunilamento da base genética da população. Resultados publicados por Sebbenn et al. (2000)

mostram que o manejo florestal levou a uma perda de alelos raros, redução na diversidade gênica e aumento na taxa de autofecundação em *Tabebuia cassinoides*.

Uma população sob manejo está sujeita a alterações no seu tamanho e nos padrões de distribuição espacial dos seus indivíduos (Bawa & Krugman, 1990) acarretando mudanças na densidade e comportamento dos polinizadores, alterando os níveis de cruzamento (Murawski et al., 1994; Jennings et al., 2001), com o aumento da autofecundação e conseqüentemente da endogamia (Bawa & Krugman, 1990). Nesse caso, a população natural pode estar sujeita à depressão genética por endogamia (Keller & Waller, 2002), caracterizada pela redução na produtividade, fertilidade, viabilidade das sementes, adaptação e vigor (Mettler & Gregg, 1973; Falconer & Mackay, 1996).

Além desses efeitos, o corte seletivo pode promover uma seleção disgênica (Jennings et al., 2001; Lemes et al., 2003), resultante da contínua exploração de indivíduos superiores, fazendo com que uma grande parte da população remanescente seja constituída por indivíduos de qualidade inferior.

2.3 Cerrado – A savana brasileira

As savanas são encontradas nos quatro continentes com faixas tropicais. No Brasil, chamadas de Cerrado, as savanas chegaram a ocupar uma área heterogênea descontínua de aproximadamente 2 milhões de km² de extensão em mais de dez estados, o que representa cerca de 23% da área do território brasileiro. O Cerrado é reconhecido como a savana mais rica do mundo em biodiversidade com a presença de diversos ecossistemas (Yong et al., 1993; Fonseca, 2000).

Até a década de 1950, os Cerrados mantiveram-se praticamente inalterados. A partir da década de 1960, com a interiorização da capital e a abertura de uma nova rede rodoviária, largos ecossistemas deram lugar à pecuária e à agricultura extensiva, como a soja, arroz e ao trigo. Tais mudanças se apoiaram, sobretudo, na implantação de novas infra-estruturas viárias e energéticas, bem como na descoberta de novas vocações desses solos regionais, permitindo novas atividades agrárias rentáveis, em detrimento de uma biodiversidade até então pouco alterada. Durante as décadas de 1970 e 1980 houve um rápido deslocamento da fronteira agrícola, com base em desmatamentos, queimadas, uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos, que resultou em 67% de áreas do Cerrado “altamente modificadas”. Restam apenas cerca de 20% de área em estado conservado (Gomes, 1998).

O cerrado ocupa a maior parte do Brasil Central (sul do Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul, oeste da Bahia, oeste de Minas Gerais e o Distrito Federal). Nesta vasta e heterogênea região encontra-se uma grande variedade de sistemas ecológicos, inclusive manchas de floresta, variados tipos de solos, clima, relevo e altitude, prevalecendo em quase toda sua extensão uma combinação peculiar de condições edáficas e climáticas, que deu origem a vegetação que a caracteriza (Gomes, 1998).

Coutinho (1992) descreve que a flora nativa dos cerrados está adaptada a esses solos, pois suas plantas não apresentam, tanto quanto se percebe, sinais de deficiências nutricionais. Algumas análises do teor mineral de seus órgãos não indicaram valores muito abaixo do normal nas plantas em geral. As espécies de cerrado certamente dispõem de mecanismos eficientes que lhe permitam sobrepujar as dificuldades nutricionais do solo e absorver o que é essencial à sua sobrevivência. Algumas espécies nativas do cerrado são capazes de acumular alumínio nas folhas em quantidades até 700 vezes a mais que a maioria das plantas.

Mittermeier (1995), estima sobre a vegetação natural remanescente indica que o Cerrado sofreu um grande impacto. Cerca de 78,7% de sua área estão sob alguma forma de uso pelo homem, o que significa que apenas 21,3%, ou 432.814 km², dos 2.031.990 km² ainda se conservam intactos.

Do Cerrado, extrai-se diferentes tipos de produtos animais e vegetais, sendo que mais de 200 espécies de plantas potencialmente úteis ainda não foram devidamente exploradas e cerca de 50 são pouco exploradas, e apenas algumas dezenas destas são exploradas comercialmente (Gomes e Amâncio, 1995).

A ação do fogo como agente natural ou antrópico é bastante comum no cerrado, fazendo com o que o ambiente seja constantemente transformado, pois atua diretamente sobre diversos aspectos ecológicos deste ecossistema. Apesar de bastante citado por diversos autores, o estudo do fogo no cerrado necessita ainda de um maior embasamento científico para comprovar sua atuação (Coutinho, 1992).

Estes fatores em conjunto mostram que o cerrado é um bioma enormemente heterogêneo, apresentando um gradiente variado de habitats naturais que abrigam inúmeras comunidades de flora e fauna em diversidade de espécies e abundância de indivíduos, os quais vivem em estreita associação pluriespecífica no espaço. Esta complexa associação chamada de comunidade ecológica é dinâmica em função do tempo. Assim, a história evolutiva do cerrado influencia a presente distribuição da fauna e seus habitats (Alho, 1993).

Embora já comprovada a sua importância em termos de biodiversidade, a proteção legal deste ecossistema resume-se ao disposto no Código Florestal e às áreas designadas como UC's que equivalem a 1% da extensão territorial do país (Feldmann, 1997).

2.4 Descrição, ocorrência e potencialidades da *D. mollis*

O gênero *Dimorphandra*, pertence à família Fabaceae, consiste de aproximadamente 11 espécies distribuídas desde a região norte da América do Sul atingindo a região sudeste do Brasil Central (Silva, 1986). Entre estas espécies, a *Dimorphandra mollis* Benth. possui ampla distribuição, característica esta apresentada por poucas espécies deste gênero.

A espécie *D. mollis*, ocorre nos estados de Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais e São Paulo. Tipicamente de hábito xerofítico, ocorre no Cerrado e suas variações (campo cerrado e cerradão) e nas matas de encosta, próximo a elevações, são encontradas em solos argilosos ou arenosos e em altitudes que variam entre 500 e 1700m. Esta espécie é conhecida por vários nomes vulgares como faveira, favela, fava-d'anta.

Trata-se de uma espécie hermafrodita cujas flores são polinizadas por pequenos insetos. A dispersão dos propágulos é feita por mamíferos não voadores sendo chamada de mastocoria (Oliveira et al. 1998, 2001). Bizerril et al. (2005) analisaram mostras de fezes de anta (*Tapirus terrestris*) no Cerrado do Brasil Central e mostram que esta é um importante consumidor de frutos e potencial dispersor de sementes. Contudo, esse consumo foi reduzido em função da baixa densidade destes frugívoros, os autores também discutem a possibilidade de os dispersores originais pertencerem a megafauna extinta de mamíferos da América do Sul.

Segundo Lorenzi (2002) a planta é decídua, heliófita, característica do cerrado e campo cerrado. Sua madeira é empregada para tabuado, confecção de compensados, forros, painéis, brinquedos e para lenha e carvão. A casca é rica em tanino e outrora muito utilizada para curtir couro. Suas vagens (favas) são tóxicas para o gado bovino. A árvore apresenta qualidades ornamentais que a

recomendam para o paisagismo. Pela ampla adaptação a terrenos secos e pobres é adequada para o plantio em áreas degradadas.

A *D. mollis* possui diversos usos entre eles, destacam-se os usos madeireiros, forrageiros, paisagístico, curtume, recuperação de áreas degradadas e o uso que possui o maior valor econômico é o medicinal, através da bioprospecção de rutina.

A principal importância da espécie está em seu fruto, pois o pericarpo e a polpa do mesmo contêm glicosídeos flavônicos, especialmente a rutina (quercetina - 3 - rutinosídeo), além de hesperidina e eriodictina, incluídos no grupo dos bioflavonóides. Os principais produtos extraídos do fruto são a rutina, a ramnose e aqueretina. A rutina foi descoberta em 1936, pelo bioquímico húngaro Albert Szent – Györgyi, se apresenta sob a forma de um pó sem sabor e de cor amarelo - esverdeado, composto por cristais microscópicos em forma de agulhas. A mesma se desponta como uma das substâncias mais promissoras na produção de medicamentos que atuam no combate ao envelhecimento e às doenças degenerativas. Adeodato (1998) cita que a rutina atua especialmente contra males causados pela senilidade, apontando com isso a tendência de aumento do consumo do produto em consequência do contínuo aumento da população idosa.

Os frutos contêm entre 6 e 10% de rutina, sendo utilizados pela indústria em estágio de pré-maturação para extração de composto, um bioflavonóide que ocorre naturalmente no reino vegetal e estão comumente contidas na dieta humana (Martins, 2004). Estes flavonóides como a rutina têm atividade vitamínica P: normalizam a resistência e a permeabilidade dos vasos capilares, em combinação com vitamina C. Além disso, a rutina diminui a permeabilidade dos glóbulos vermelhos e protege a vitamina C contra oxidação, podendo também ser empregada como anti-hemorrágica, atuam inibindo o crescimento de

tumores em vários cancros celulares, possui poderosa ação antioxidante, além de ser utilizada em cosméticos, uma vez que protege a pele contra os radicais livres.

No entanto, segundo Almeida (2004), como a espécie ainda não é cultivada, toda esta matéria prima é extraída do Cerrado de forma desordenada, não havendo o cuidado com a reprodução da espécie, com isso a mesma poderá ser dizimada. Segundo Gomes (1998), há falta de informações estatísticas, nem o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) dispõe de informações sobre a espécie, prejudicando uma análise mais aprofundada sobre o extrativismo da *D. mollis*.

A rutina é explorada por grandes empresas nacionais e estrangeiras, como a Botica Comércio, Importação e Exportação, Botica Veado D'Ouro Ltda; FITOL S.A. Indústria e Comércio, Merck Indústrias Químicas S.A.; Merck Maranhão Produtos Vegetais S.A., PVP Sociedade Anônima, Sanrisil S.A. em São Paulo mediante o pagamento de um preço irrisório pela matéria - prima, depois de refinada a substância volta ao mercado sob a forma de medicamentos, vitaminas e complementos alimentares a preços altos. O total do faturamento anual das empresas, apresentado por Gomes(1998), com a exportação de rutina, nos últimos anos tem mantido um faturamento médio anual em torno de US\$ 12.039.876,00.

Além da rutina, extrai-se da *D. mollis* a ramnose, um aditivo alimentar que participa da síntese de furaniol e é utilizado pela indústria alimentícia como aromatizante (Gomes, 1998).

Gomes e Amâncio (1995) descrevem a partir de diagnóstico feito no norte de Minas Gerais, que várias espécies são intensamente utilizadas pelas comunidades e que, algumas extrações de ervas parecem manter um equilíbrio entre a exploração e a regeneração. Outras são depredadoras, como a extração de madeiras para carvão e posterior formação de pastagem ou culturas, ou ainda a

extração de frutos, que merece um estudo mais aprofundado sobre possíveis efeitos predatórios.

Gomes (1998) menciona que é necessário haver maior integração entre organismos de pesquisas e indústrias, objetivando não só estudos dos componentes químicos da matéria-prima, mas também o levantamento de problemas relacionados à garantia da manutenção da espécie.

Por outro lado, Rantam & Boyle (2000) e Bawa & Krugman (1994) argumentam que a exploração sustentada de florestas nativas necessita de estimativas confiáveis de parâmetros demográficos e genéticos que permitam a manutenção no espaço e no tempo das espécies exploradas.

2.5 Diversidade genética

O sucesso de programas de conservação e melhoramento genético depende diretamente dos níveis de variabilidade genética das populações de interesse, pois somente a partir da variabilidade é possível que se selecione os genótipos de interesse.

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

Segundo Dias & Kageyama (1991), em nível molecular, a variabilidade genética natural manifesta-se em indivíduos dentro de população, em populações

dentro de espécie, a nível de espécie e a nível de ecossistema. A estrutura genética das populações envolve o conhecimento dos níveis de variabilidade genética e de sua distribuição entre e dentro de populações, sendo este conhecimento muito importante por permitir a adoção de estratégias de manejo mais adequadas para a conservação genética e também na exploração desta variabilidade em melhoramento vegetal.

Segundo Hamrick & Murawski (1991), a magnitude da variabilidade isoenzimática dentro de populações de plantas é influenciada por fatores ecológicos e da história vital das espécies, assim como pela história recente das populações (Brown, 1979; Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick e Godt, 1989; Oliveira, 2000). Por exemplo, as populações que têm sido pequenas por várias gerações, ou que atravessaram uma série de gargalos genéticos, podem ter uma menor variabilidade genética do que aquelas populações que são grandes e estáveis por várias gerações (Nei et al., 1975; Karron, 1987 *et al.*, 1988). Nei, et al., (1975) apontam que, com a deriva genética, o número médio de alelos por loco diminui, porque a probabilidade de um alelo raro ocorrer em uma população fundadora diminui com o tamanho da população.

Um fator que deve ser levado em consideração nos estudos populacionais refere-se ao procedimento de amostragem a ser adotado. Há discussões na literatura sobre o número mínimo de locos necessários para se gerar estimativas aceitáveis quanto à variação genética. Lewontin (1974) é da opinião de que estudos com menos de 18 locos são de valor questionável. Segundo Powell (1975), outros autores não têm incluído estudos em que menos de 10 locos tenham sido utilizados. Outros critérios que são freqüentemente aplicados relacionam-se ao número de populações por espécie e ao número de indivíduos por população (Hamrick, 1979).

Uma vez que indivíduos, e não genótipos de um único loco são produzidos por eventos de cruzamentos e, ou endogamia, torna-se mais intuitivo

o uso de vários locos polimórficos simultâneos para o exame do sistema reprodutivo.

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

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

Para a realização do estudo da variabilidade genética em populações naturais, são necessárias duas etapas fundamentais: a primeira é descrever os níveis de variabilidade genética mantida dentro das populações de espécies; a segunda é descrever o caminho pela qual a variabilidade genética é distribuída entre e dentro de populações (Loveless e Hamrick, 1987; Kageyama, 1987).

A caracterização da variabilidade genética dentro de populações é efetuada a partir de medidas de diversidade intrapopulacionais, como: a porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}); o número médio de alelos observados (\hat{A}); a heterozigose média esperada (\hat{H}_e) por loco e a heterozigose média observada (\hat{H}_o).

2.6 Técnicas para estudo da diversidade genética

O conceito de diversidade segundo Nei (1973), é associado à variabilidade genética existente em uma dada espécie, sendo a heterozigosidade esperada a medida para quantificar esta diversidade. A quantificação da diversidade pode ser feita utilizando vários marcadores morfológicos, fisiológicos, bioquímicos ou moleculares.

Isoenzimas são as diferentes formas bioquímicas de uma enzima, com uma mesma especificidade de substrato, que podem ser identificadas por migração e coloração em gel. Podem ser controlados por um ou vários alelos situados em um mesmo loco, ou em diferentes locos (Alfenas et al., 1991).

A eletroforese de isoenzimas revelou uma nova fonte de marcadores genéticos capazes de identificar indivíduos homozigóticos e heterozigóticos. Esta técnica contribuiu para avanços expressivos na área da genética de populações, revelando uma quantidade significativa de variação nos mais diferentes organismos (Pinto et al., 2001). A rapidez e simplicidade da técnica aliada ao seu baixo custo em relação aos marcadores baseados em polimorfismo de DNA fazem com que esse marcador continue a ser utilizado para responder às diversas perguntas que a genética impõe.

A estrutura genética de populações, a partir de dados enzimáticos, pode ser caracterizada utilizando três metodologias distintas: análise de variância de frequências alélicas (Vencovsky, 1992; Weir, 1996), estimativas da diversidade genética de Nei (1973, 1978) e estatística F de Wright (Wright, 1965). A análise da variância fornece a distribuição da variabilidade genética em diversos níveis hierárquicos. A diversidade genética de Nei fornece a proporção da variabilidade genética contida entre e dentro das populações, e a estatística F fornece os índices de fixação alélicas do total de populações, média dentro e entre populações, ou seja, fornece a probabilidade de dois genes tirados ao acaso, de diferentes níveis populacionais, serem idênticos por descendência.

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

2.7 Fluxo gênico

Fluxo gênico, por definição, inclui o movimento dos gametas, sementes, indivíduos ou grupos de indivíduos e a recolonização de populações inteiras (Slatkin, 1981). Pode-se dizer que é a entrada ou saída recorrente de genes de uma população por migração. O fluxo gênico tem o efeito de homogeneizar a composição genética, de modo que se ele for o único fator operante, todas as populações irão convergir para uma mesma frequência alélica (Futuyma, 1992).

A movimentação de alelos entre e dentro populações naturais é resultado de dispersão dos propágulos, bem como dos efeitos da seleção natural, associados à dinâmica demográfica (Reis, 1996). Neste contexto, Kageyama (1986) ressalta que a dispersão de pólen e de sementes determina o fluxo gênico entre e dentro de populações, influenciando diretamente a estrutura genética das populações.

O fluxo gênico está entre os eventos que melhor caracterizam a dinâmica da movimentação de alelos em populações naturais, pois implica na quantificação deste movimento entre populações, bem como na caracterização dos mecanismos envolvidos (Reis, 1996). De acordo com Martins (1987), o fluxo gênico é importante entre os diversos mecanismos microevolutivos, por suas implicações na estrutura genética de populações, tanto entre como dentro, pois condiciona a natureza e o nível de variabilidade dessas populações e precisa ser considerado no estabelecimento e manejo de reservas genéticas. Slatkin (1981) sugere que as espécies com alto fluxo gênico desenvolvem-se como uma unidade panmítica, enquanto que a seleção e a deriva podem ser bastante importantes em espécies que apresentem baixo fluxo gênico.

Entretanto, Wright (1931) ressalta que o fluxo gênico deve exceder um determinado nível para evitar substancial diferenciação genética devida à deriva. Na teoria, populações locais irão divergir por deriva se o fluxo gênico ($\hat{N}m$) a partir de uma população fonte ou unidade panmítica for menor que 1 migrante por geração.

Futuyma (1992) descreve quatro modelos para explicar como o fluxo gênico atua em metapopulações: i) continente-ilha que é representação mais simples do processo de colonização. Ele baseia-se no modelo de migração de ilhas de Wright (1940) e assume migração unidirecional de uma fonte relativamente grande, com uma frequência alélica fixada para colônias pequenas isoladas ou ilhas. Pode ser aplicado para populações de plantas que envolvem

dispersão a longas distâncias e são particularmente relevantes para a distribuição de plantas colonizadoras (Barrett & Husband, 1989); ii) no modelo de ilhas a migração ocorre entre subpopulações. Ao contrário do modelo “continente-ilha”, a migração é multidirecional porque as subpopulações são consideradas com o mesmo tamanho efetivo, iii) alpondras ("stepping-stone") no qual cada população recebe migrantes somente de populações vizinhas. No modelo de “alpondras” (Kimura & Weiss, 1964), há a predição de que quando a migração é restrita dessa forma, as populações divergirão e a correlação entre populações diminuirá com as distâncias que as separam (Barrett & Husband, 1989) e iv) modelo de isolamento por distância, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre vizinhos, em uma população de distribuição contínua. Na maioria dos casos, os imigrantes, em grande parte, vêm de grupos vizinhos, havendo um maior ou menor grau de isolamento pela distância (Wright, 1969).

2.8 Distribuição espacial dos genótipos

O conhecimento e entendimento da estrutura genética espacial ao nível populacional são cruciais para o manejo e conservação dos recursos genéticos (Kevin et al., 2004), pois a presença de estruturação genética pode influenciar padrões reprodutivos e evolutivos. Além disso, tal conhecimento é de fundamental importância para o estabelecimento de estratégias de amostragem em populações naturais, seja para fins de conservação ou melhoramento genético (Miyamoto et al., 2002).

Diversos processos evolutivos e ecológicos, como a dispersão de sementes, a competição inter e intraespecífica e a heterogeneidade do ambiente podem afetar os padrões de distribuição espacial dos indivíduos dentro de uma população (Kevin et al., 2004). Em adição aos processos ecológicos e

evolutivos, a estrutura genética espacial dentro das populações também pode afetar os padrões de distribuição espacial, pela dispersão limitada de pólen e sementes, deriva genética local, endogamia e seleção favorecendo o mesmo ou diferentes genótipos (Heywood, 1991; Epperson, 1995). Epperson & Allard (1989) consideram que a estrutura espacial dos genótipos em populações é parte integrante dos processos genéticos populacionais. De acordo com Sokal & Menozzi (1982), a estruturação espacial dos genótipos pode servir como indicativo de processos como migração, fluxo gênico, deriva genética e seleção e ainda, influenciar a dinâmica da endogamia biparental e depressão endogâmica (Setsuko et al., 2004). A existência de estrutura genética espacial positiva, ou seja, de indivíduos aparentados localizados próximos dentro das populações, pode indicar ainda a ocorrência de cruzamentos endogâmicos (Sebbenn, 1997).

A estrutura genética espacial, ou seja, a maneira como os genótipos estão distribuídos espacialmente numa população pode ser investigada utilizando a análise de autocorrelação espacial. Os métodos de autocorrelação foram desenvolvidos no início dos anos 50 (Moran, 1950 citado por Robinson, 1998) e estendidos para a biologia por Sokal & Oden (1978), podendo ser aplicados à genética como um procedimento exploratório (Robinson, 1998), procurando explicar padrões de heterogeneidade genética. Legendre (1993) define a autocorrelação espacial como a propriedade de variáveis assumirem valores, em pares de localidades separadas por certa distância, mais similares (autocorrelação positiva) ou menos similares (autocorrelação negativa) do que seria esperado pela associação aleatória dos pares observados. A análise de autocorrelação espacial compreende um conjunto de procedimentos estatísticos delineados para detectar e quantificar a dependência em uma variável baseada em valores amostrados de localidades múltiplas mapeadas em um espaço geográfico (Heywood, 1991).

Em estudos de genética populacional, utilizando-se as frequências alélicas, a autocorrelação espacial é usualmente mensurada pelo índice I de Moran (Epperson & Chung, 2001; Lacerda & Kageyama, 2003; Kevin et al., 2004). Os valores da variável devem ser correlacionados com pares de pontos em um plano; no entanto, nem todos os pares de pontos serão relacionados, mas apenas aqueles considerados vizinhos (Sokal & Oden, 1978). Entre os métodos mais frequentemente utilizados para conectar os pares de localidades amostrais vizinhas, estão o algoritmo do vizinho mais próximo e a conexão de Gabriel (Sokal & Oden, 1978; Heywood, 1991).

A estrutura espacial dos genótipos também pode ser analisada a partir de estimativas de coeficientes de parentesco ou coeficientes de coancestralidade, baseados na probabilidade de identidade dos alelos em dois genes homólogos amostrados da mesma maneira. As estimativas de coancestria são definidas como probabilidade de identidade por descendência entre alelos (Ritland, 1996).

A partir de dados de marcadores genéticos estima-se uma “coancestria relativa” que pode ser definida como a razão de diferenças de probabilidades de identidade por estado (Rousset, 2002). O índice I de Moran tem sido utilizado amplamente no estudo da distribuição espacial dos genótipos, mas, recentemente, muitos autores têm empregado os coeficientes de coancestralidade para analisar a estrutura genética espacial de espécies arbóreas (Loiselle et al., 1995; Miyamoto et al., 2002; Ruggiero et al., 2005).

Em uma população existem limitações físicas que podem dificultar os cruzamentos aleatórios, devendo haver maior probabilidade de cruzamentos entre indivíduos mais próximos, o que por sua vez pode levar à formação de grupos, estruturando a população (Futuyma, 1992). Estudos sobre a estrutura intrapopulacional de espécies arbóreas têm demonstrado que a distribuição de alelos e genótipos não é aleatória dentro das populações. A existência de estruturação genética espacial foi observada em populações de *Ocotea odorifera*

(Kageyama et al., 2003b), de *Eschweilera ovata* (Gusson, 2003), de *Shorea leprosula* e *Shorea ovalis* (Kevin et al., 2004) e de *Cryptocarya moschata* (Moraes et al., 2004). Por outro lado, há trabalhos envolvendo espécies arbóreas tropicais que constataram a ausência de estruturação genética espacial, como em *Platypodium elegans* (Hamrick et al., 1993), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Cedrela fissilis* (Póvoa, 2002), *Caryocar brasiliense* (Melo Júnior, 2003) e *Myracrodruon urundeuva* (Lacerda & Kageyama, 2003).

2.9 Tamanho efetivo populacional

O tamanho efetivo da população (\hat{N}_e) representa o tamanho de uma população, ou vizinhança que sofre o mesmo declínio de variância genética por endogamia ou deriva, como aquele de uma referencial idealizada, panmítica, de tamanho N (Crow e Kimura, 1970; Lande, 1988). O conceito e a teoria matemática do tamanho efetivo foram desenvolvidos por Wright (1931) e Fisher (1941), a partir de estudos do efeito de deriva genética ao acaso sobre as frequências de genes atribuídos a pequenas populações.

O tamanho efetivo é tomado como medida de representatividade genética da amostra de indivíduos e é um importante parâmetro em genética quantitativa e de populações, porque as taxas de deriva genética e de endogamia são mensuradas (Vencovsky, 1987). Este parâmetro depende principalmente dos níveis de endogamia e parentesco existentes na amostra, sendo que quanto maiores estes níveis, menor será a representatividade genética da amostra (Vencovsky, 1987). O tamanho efetivo populacional incorpora um fator histórico: uma população com um número grande de indivíduos originados há poucas gerações de um número pequeno de ancestrais, terá um tamanho efetivo

populacional menor do que populações que permaneceram demograficamente estáveis há muito tempo. A diminuição do tamanho efetivo populacional é um dos principais responsáveis pela perda de variabilidade em populações ameaçadas de extinção. O número mínimo de indivíduos que se reproduziram durante um período do estrangulamento demográfico define a probabilidade de perda de alelos por deriva genética. Os alelos perdidos só podem ser recuperados por mutação ou, a partir de outras populações, por imigração (Solé-Cava, 2001).

O tamanho efetivo pode ser estimado para várias situações, como por exemplo, para uma população de plantas adultas, uma população estruturada em progênies, várias populações, populações em várias regiões, acessos de um banco de germoplasma etc. O importante na estimativa de \hat{N}_e é que a população de referência esteja bem definida (Sebbenn, 2001).

O tamanho efetivo de população influencia diretamente na manutenção da estrutura genética de uma população ao longo das gerações. Neste sentido, o \hat{N}_e é de grande importância para delimitar a área mínima viável para conservação *in situ* de uma espécie (Sebben, 1997). Além disso, o conhecimento do \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 deste parâmetro propiciar a manutenção das populações por longo tempo nos bancos de germoplasma.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização dos locais de estudo

O material para estudo foi obtido a partir da coleta em três populações naturais de *D. mollis*, localizadas no município de Jequitaiá, norte do estado de Minas Gerais (Figura 1). As populações apresentam um distanciamento entre si variando de 5 a 16 km.

O primeiro local de estudo, está localizado na Fazenda Vargem da Cruz, aqui denominada população Vargem da Cruz, com altitude média de 541 m, nas coordenadas UTM 23 K 553 301 e 810 1009 e corresponde a uma área de extrativismo da *D. mollis*. Este local encontra-se às margens do Rio Jequitaiá, afluente do São Francisco. Segundo a descrição de antigos moradores e catadores de fava, a área era coberta por vegetação de cerrado *sensu stricto* (IBGE, 1993). Atualmente apresenta-se altamente antropizada e, devido a expansão das áreas de pastagens, os indivíduos remanescentes de *D. mollis* ainda se encontram na área devido ao grande interesse pela coleta de seu fruto. A coleta é realizada pelo proprietário e pelos moradores meeiros e outros catadores da região. Segundo análise de solos realizadas pelo Laboratório de Análise Química de Solos da UFLA, os solos possuem classe de textura média, apresentando maior concentração de areia e média concentração de matéria orgânica.

A segunda população encontra-se na Fazenda Campina Verde, inserida nas coordenadas 23 K 563 196 e 809 7172 e com 530 m de altitude. Essa área sofre forte exploração da vegetação, principalmente para a produção do carvão vegetal. Os moradores, assim como na população Vargem da Cruz, fazem o corte seletivo, deixando indivíduos de fava para a coleta. Apesar do corte ser seletivo para a carvoaria, percebeu-se no campo vários indivíduos de *D. mollis*

cortados. Segundo os carvoeiros, eles não são orientados pelos órgãos locais competentes para manejar o cerrado para a fabricação de carvão. Assim como na população Vargem da Cruz, os solos possuem classe de textura média, apresentando maior concentração de areia e média concentração de matéria orgânica.

A terceira população denomina-se Pau de Fruta, está inserida na coordenada geográfica UTM 23 K 567 723 e 809 5746, localiza-se em uma chapada e alcança altitude de cerca de 760 m. A área é de difícil acesso, com elevadas altitudes, é uma região divisora de águas, permanece com vegetação remanescente de Cerrado, em sua formação original *sensu strictu* (IBGE, 1993), ainda pouco explorada. Isto permite que as populações naturais de *D. mollis* se mantenham mais protegidas na região pelo extrativismo local. Os solos possuem classe de textura média, apresentando maior concentração de areia, porém, difere-se as outras duas populações devido a baixa concentração de matéria orgânica.

As populações analisadas encontram-se em altitudes variando entre 530m a 760m. As distâncias geográficas entre as três populações, variam entre 5km a 16km, conforme a Tabela 1.

TABELA 1. Altitude e distância geográfica em kilometros entre as populações de *Dimorphandra mollis* Benth analisadas, localizadas no município de Jequitai, Minas Gerais.

Populações	Vargem da Cruz	Campina Verde	Pau de Fruta	Altitude (m)
Vargem da Cruz	-			541
Campina Verde	11,33	-		530
Pau de Fruta	16,20	5,42	-	760

Município de Jequitaiá:
curvas de nível

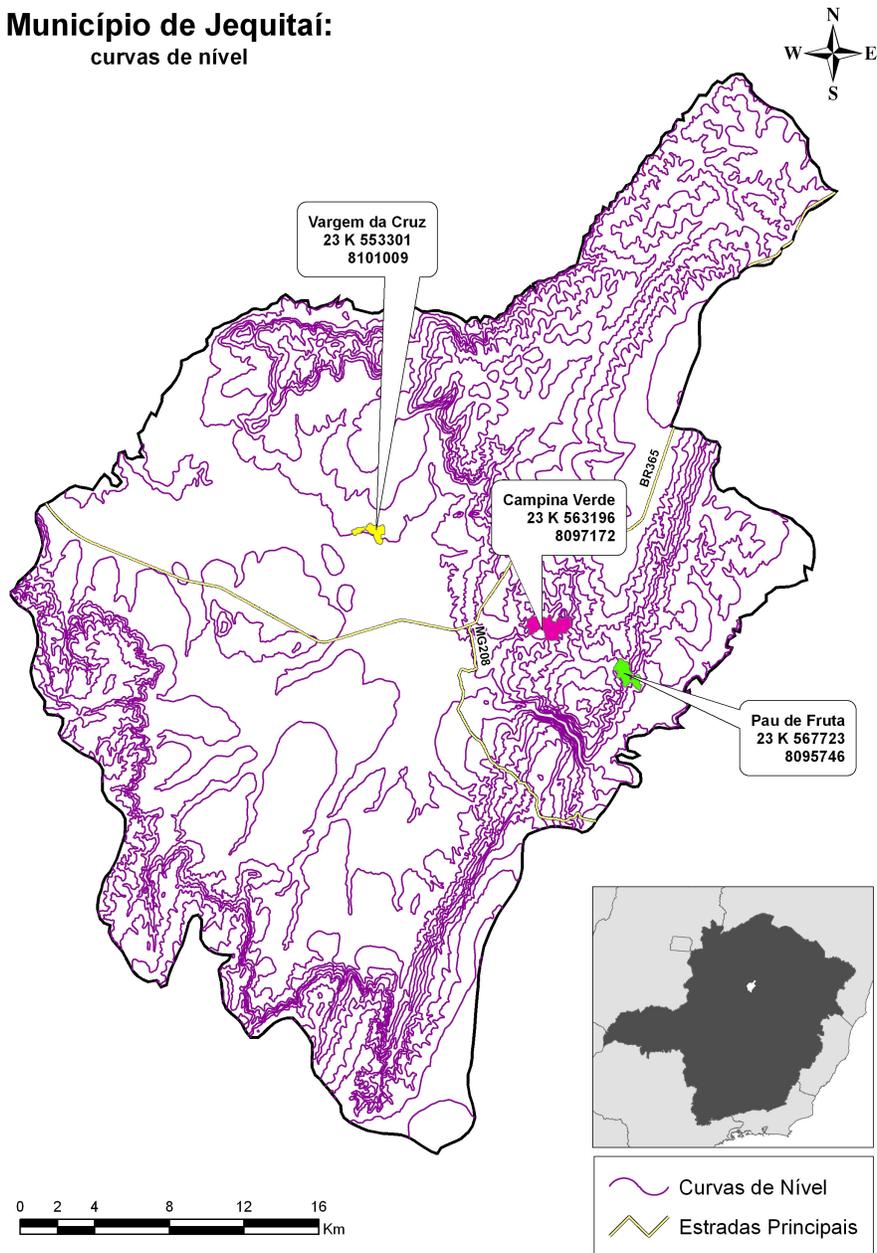


FIGURA 1. Localização das populações de *Dimorphandra mollis* Benth. no Município de Jequitaiá - Minas Gerais.

3.2 Caracterização genética dos indivíduos

Em cada uma das populações foram amostrados, ao acaso, 60 indivíduos por população com uma distância mínima de 50m entre cada um. Todas as árvores foram plaqueteadas, identificadas no caule com número correspondente. Além disso, todos os indivíduos foram georeferenciados com aparelho de GPS, para posterior análise de autocorrelação espacial.

Para análise da estrutura genética e índices de diversidade, coletaram-se amostras foliares de plantas adultas. As amostras foram colocadas em saco plástico, identificadas e acondicionadas em caixa térmica com gelo para transporte até o laboratório, onde foi armazenado a -75 °C.

A coleta foi realizada em duas épocas, a primeira em maio e a segunda em agosto, no ano de 2004. A extração das enzimas foi realizada no Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos do Departamento de Ciências Florestais da UFLA.

3.3 Extração das enzimas

Para proporção de material vegetal e solução extratora, Alfenas (1998) sugere a proporção de 1 g de tecido para cada 2 a 3 mL de solução. Entretanto, devido aos resultados satisfatórios alcançados na resolução da maioria das enzimas testadas, utilizou-se a proporção de 0,35g de material vegetal para 1,75 mL de solução extratora. Após a maceração, o produto foi centrifugado a 12.000 rpm a 4°C por 15 minutos, 40 µL do sobrenadante foi aplicado nas canaletas dos géis, composto pelo gel de concentração (4,5%) e de separação (12,5%).

A eletroforese foi conduzida em cuba vertical, utilizando-se géis de poliacrilamida como suporte, procedeu-se, então, a aplicação de corrente elétrica proporcionando a migração das isoenzimas. A corrente elétrica aplicada era

constante (10 mA em cada gel) e o tempo médio de corrida foi de três horas e meia. Após a corrida eletroforética, foram feitas revelações de acordo com o sistema enzimático, segundo metodologia de Brune et al. (1998). A identificação dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais catódica para a mais anódica. Assim, em um sistema enzimático em que dois fragmentos são identificados, aquele com maior migração recebeu a denominação de alelo-1 e o outro de alelo-2. Da mesma forma, foram identificados os locos presentes em cada sistema enzimático.

A interpretação de cada sistema enzimático foi realizada seguindo os padrões descritos em trabalhos do gênero (Alfenas, 1998; Kephart, 1990; Soltis & Soltis, 1989). Foram testados 15 sistemas enzimáticos, os quais estão listados na Tabela 2, e dentre estes, foram selecionados aqueles que apresentaram melhores padrões enzimáticos para interpretação.

TABELA 2. Sistemas enzimáticos testados em *Dimorphandra mollis* Benth.

Sistema Enzimático	Sigla	EC*
α esterase	α -EST	3.01.01.01
β esterase	β -EST	3.01.01.01
β -galactose desidrogenase	GLDH	1.01.01.48
Álcool desidrogenase	ADH	1.01.01.01
Enzima málica	ME	1.01.01.40
Fosfatase ácida	ACP	3.01.03.02
Glucose desidrogenase	GDH	1.01.01.47
Glutamato oxaloacetato trasaminase	GOT	2.06.01.01
Glutamato desidrogenase	GTDH	1.04.01.03
Isocitrato desidrogenase	IDH	1.01.01.42
Leucina aminopeptidase	LAP	3.04.11.01
Malato desidrogenase	MDH	1.01.01.37
Peroxidase	PO	1.11.01.07
Sorbitol desidrogenase	SDH	1.01.01.14
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.01.01.25

*EC - Enzyme Commission.

3.4 Análise dos dados isoenzimáticos

A interpretação dos zimogramas permitiu a determinação dos genótipos de cada indivíduo, possibilitando a estimativa de vários parâmetros genéticos.

3.4.1 Variação genética intrapopulacional

A variação genética de cada população foi caracterizada pela estimativa das frequências alélicas e dos índices de diversidade. As frequências alélicas descrevem a variação para cada loco e suas estimativas foram obtidas pelo software BIOSYS 2 (Swofford & Selander, 1997), por meio da contagem direta do número de alelos por loco, dividido pelo número de alelos no loco: $\hat{P}_{ij} = n_{ij}/n_{.j}$, sendo \hat{P}_{ij} a frequência do alelo i na população j , n_{ij} o número de ocorrência do alelo i na população j e $n_{.j}$ o número total de alelos amostrados na população j .

Para a determinação da similaridade entre frequências alélicas dentro de um mesmo loco (ou equidade gênica), consideraram-se como similares dois alelos que apresentam frequência entre 0,350 e 0,650 (Frankel et al., 1995).

3.4.2 Índices de diversidade genética

A partir das frequências alélicas foram obtidos os seguintes índices de diversidade genética: heterozigose média observada (\hat{H}_o), heterozigose média esperada (\hat{H}_e) de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, número médio de alelos por loco (\hat{A}) e porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}). Esses índices foram obtidos utilizando o software BIOSYS 2 (Swofford & Selander, 1997), com exceção do índice de fixação de Wright, obtido com o auxílio do software Genetic Data Analysis - GDA (Lewis & Zaykin, 2000).

A heterozigose média observada (\hat{H}_o) para cada loco foi obtida pela razão entre o número total de heterozigotos e o número de indivíduos. Para se obter a heterozigose média observada (\hat{H}_o), 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} é a frequência dos genótipos homozigotos.

A heterozigose média esperada (\hat{H}_e) para cada loco em uma dada população, foi obtida a partir das frequências alélicas, segundo frequências genotípicas esperadas conforme equilíbrio de Hardy-Weinberg, de acordo com Nei (1987). A heterozigose média esperada foi obtida pela média aritmética entre todos os locos polimórficos analisados: $\hat{H}_e = 2n(\sum \hat{P}_i^2)/(2n - 1)$, em que n é o número de indivíduos amostrados na população em questão e \hat{P}_i^2 a frequência alélica estimada do i-ésimo alelo.

Dessa forma, a porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}) foi obtida pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos. Um loco é considerado polimórfico quando a frequência de seu alelo mais comum não ultrapassar 0,99. O critério utilizado para locos polimórficos foi o sugerido por Nei (1987) para amostras superiores a 50 indivíduos, utilizou-se 0,95.

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

O parâmetro utilizado para medir o grau de fixação gênica resultante da endogamia é o coeficiente F de Wright (1931), definido como a correlação entre os alelos nos gametas que formam um zigoto. Estes foram obtidos dos locos e da média entre locos a partir das seguintes relações: $\hat{f} = 1 - \hat{H}_o/\hat{H}_e$ (locos) e $\hat{f} = 1 - \sum \hat{H}_o/\sum \hat{H}_e$ (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.

3.4.3 Estrutura genética das populações

A estrutura genética foi abordada a partir dos coeficientes de coancestralidade de Cockerham. Esta metodologia permite a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de calcular as estimativas com correção para tamanho populacional finito. Os coeficientes de coancestralidade são obtidos a partir da decomposição dos componentes de variação da análise de variância das freqüências alélicas. Como este modelo considera o processo amostral nas estimativas dos parâmetros, a análise de variância apresenta uma precisão maior (Reis, 1996; Sebbenn, 1997).

A análise de variância, considerando os indivíduos adultos, baseou-se no seguinte modelo hierárquico de dois níveis: $Y_{ijk} = \mu + p_k + aj(k) + g_i(jk)$, em que: Y_{ijk} é a freqüência (0 ou 1) do alelo i do indivíduo j da população k ; μ é a média geral; p_k é o efeito da população k ; $aj(k)$ o efeito do indivíduo j dentro da população k ; $g_i(jk)$ o efeito do alelo i dentro do indivíduo j dentro da população k .

As estimativas dos componentes de variância foram obtidas conforme a metodologia apresentada por Weir (1996), a partir das esperanças dos quadrados médios, demonstradas na Tabela 3, da seguinte maneira:

TABELA 3. Esquema de análise de variância das frequências alélicas, com as esperanças dos quadrados médios, E(QM) para os indivíduos de *Dimorphandra mollis* Benth.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios (QM)	Esperanças (QM)
Entre populações	P - 1	QM _P	$\sigma_G^2 + 2\sigma_I^2 + K_1\sigma_P^2$
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		

Assim, os componentes de variância foram obtidos da seguinte maneira:

$$\hat{\sigma}_G^2 = QM_G \quad \hat{\sigma}_I^2 = \frac{QM_I - QM_G}{2} \quad \hat{\sigma}_P^2 = \frac{QM_P - QM_I}{K_1} \quad \text{em que: } K_1 \text{ corresponde}$$

ao coeficiente das variâncias entre populações.

O significado 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, baseado em Cockerham (1969) e Weir (1990), tem-se que:

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

$\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_P^2 = \hat{p}(1-\hat{p})$ em que: \hat{p} é a frequência alélica em um determinado loco; \hat{F} é o coeficiente médio de endogamia de todas as plantas nas populações analisadas; $\hat{\theta}_P$ a correlação entre as frequências alélicas de diferentes indivíduos da mesma população;

Dessa forma, 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: $\hat{F} = \frac{\hat{\sigma}_T^2 - \hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_T^2}$

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

Com a finalidade de verificar se as frequências genotípicas observadas em cada loco polimórfico de cada população sofria desvios em relação às frequências esperadas pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg, aplicou-se um teste de Fisher utilizando-se o programa BIOSYS 2 (Swofford e Selander, 1997).

Em função do número amostral utilizado, a verificação das significâncias foi feita por meio do teste exato de Fisher, por ser este menos restritivo em relação às frequências alélicas (Siegel, 1956). Os testes exatos são geralmente usados para tamanhos amostrais pequenos, quando há uma maior chance de ter números esperados pequenos no teste qui-quadrado (Weir, 1996). Mesmo em amostras moderadamente grandes, a existência de três alelos raros no loco resulta em números esperados pequenos e, nesses casos, os teste exatos são preferíveis.

3.5 Estimativa do fluxo gênico populacional

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

As estimativas de fluxo gênico entre as populações basearam-se na metodologia proposta por Wright (1951), que considera a quantidade de migrantes (\hat{Nm}) e a divergência genética entre populações (\hat{F}_{ST}). Utilizou-se a equação proposta por Crow & Aoki (1984): $\hat{Nm} = 1/4\alpha (1/\hat{F}_{ST} - 1)$, sendo $\alpha = (n/(n-1))^2$ e n o número de populações.

No entanto, Cockerham & Weir (1993) consideram que o emprego do $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência entre populações é mais adequado e por isso ele foi utilizado, ao invés do \hat{F}_{ST} .

No caso do modelo de ilhas o \hat{Nm} mede o número de gametas que se movem, enquanto que nos modelos contínuos, como o isolamento por distância, utiliza-se o \hat{N}_b que representa o tamanho de vizinhança ou a 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), a saber: $\hat{N}_b = 2\pi \cdot \hat{Nm}$. O \hat{N}_b pode ser da mesma ordem de magnitude que \hat{Nm} , dependendo das características da população (Eguiarte et al., 1993; Slatkin & Barton, 1989).

Adicionalmente, a matriz de distância genética ($\hat{\theta}_p$) 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 que X_{ij} e Y_{ij} são 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.

3.6 Estimativa do tamanho efetivo populacional

Para o cálculo do estimador do tamanho efetivo das populações, foram utilizados métodos baseados em variância das frequências alélicas, para indivíduos adultos de uma simples população, conforme Vencovsky (1992):

Estimativa do \hat{N}_e para indivíduos adultos de uma simples população: $\hat{N}_e = n/1 + \hat{f}$, sendo n o número de plantas adultas e \hat{f} o coeficiente de endogamia intrapopulacional.

Estimativa do \hat{N}_e para várias populações: $\hat{N}_e = 0,5/\hat{\theta}_p(1+C_p/p - 1/n) + 1+\hat{F}/2n$, sendo $\hat{\theta}_p$ o coeficiente de coancestralidade relativo a populações, p o número de populações avaliadas, n o número total de indivíduos avaliados nas populações, C_p o quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos (n_i) entre as populações e \hat{F} o índice de fixação para o conjunto das populações.

A distância genética entre cada população foi calculada conforme proposto por Nei (1978), com auxílio do programa BIOSYS-2 (Swofford & Selander, 1997), obtendo-se a estimativa não viesada e aplicando-a ao método UPGMA de agrupamento, para a construção do dendrograma.

$$\hat{D} = -\ln \hat{I} \quad \hat{I} = \hat{J}_{XY} / \sqrt{\hat{J}_X \hat{J}_Y} \quad \text{em que: } \hat{J}_{XY} = \left(\sum_{i=1}^r \sum X_i Y_i \right) / r$$

$$\hat{J}_X = \left[\sum_{i=1}^r (2n_X \sum X_i - 1) / (2n_X - 1) \right] / r \quad \hat{J}_Y = \left[\sum_{i=1}^r (2n_Y \sum Y_i - 1) / (2n_Y - 1) \right] / r$$

, sendo: \hat{I} - identidade genética não viesada, X_i - frequência do alelo i na população X , Y_i - frequência do alelo i na população Y , r - número de locos.

A população mínima viável (PMV) calculada corresponde ao número de indivíduos necessários para a manutenção da integridade genética da população.

A diferença (\hat{D}) entre o tamanho populacional estimado para cada população (\hat{N}) e a PMV foi calculada por: $\hat{D} = DA.A - (\hat{N}_{e(referência)} / (\hat{N}_e / n))$, sendo que DA é a densidade absoluta (ind.ha⁻¹) (Vieira, 2005). A é área da população (ha), $\hat{N}_{e(referência)}$ é o tamanho efetivo de referência, 150 ou 1.500, para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente (Nunney & Campbell, 1993), \hat{N}_e é tamanho efetivo populacional e N é o tamanho amostral de cada população.

3.7 Distribuição espacial dos genótipos

A análise da estrutura espacial dos genótipos foi realizada dentro de cada uma das populações de *D. mollis*.

Estimou-se o coeficiente de coancestria $\hat{\theta}_{xy}$ entre pares de indivíduos para 10 classes de distância, usando o coeficiente de coancestria proposto por Ritland (1996). Para a estimativa $\hat{\theta}_{xy}$ empregou-se o programa SPAGeDi versão

1.1 (Hardy & Vekemans, 2003). 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.

A caracterização da estrutura espacial também foi efetuada pelo Índice de Moran, de acordo com Sokal & Oden (1978), o qual pode assumir valores entre -1 e $+1$ sendo que -1 significa que os indivíduos pareados são completamente diferentes, e o valor $+1$ significa que os indivíduos pareados são idênticos. O valor zero significa ausência de autocorrelação, isto é, os indivíduos estão distribuídos no espaço de forma aleatória. O índice de Moran é calculado para uma dada classe de distância s_q . Para cada alelo, o índice \hat{I}_q é calculado da seguinte forma: $I = [n \sum_{i \neq j} w_{ij} (a_i - \bar{a})(a_j - \bar{a})] / [W \sum_i (a_i - \bar{a})^2]$, para dados categorizados e para um determinado alelo, sendo n o número de indivíduos utilizados na análise, w_{ij} os pesos utilizados na comparação dos pontos, a_i o valor dado ao indivíduo i ($a_i = 1; 0,5$ ou 0), a_j o valor dado ao indivíduo j ($a_j = 1; 0,5$ ou 0), \bar{a} o valor médio obtido dos indivíduos analisados e $w = \sum_{ij} w_{ij}$ a soma das entradas da matriz dos pesos.

Os valores estimados do índice I de Moran foram usados para testar a significância dos desvios dos valores esperados, $E(I) = -1/(n-1)$, sobre a hipótese de nulidade de distribuição aleatória (Cliff & Ord, 1981). Para análise de autocorrelação espacial utilizou-se o software SGS (Degen, 2001), obtendo-se o correlograma da média entre locos e seus respectivos intervalos de confiança a 95% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sistemas enzimáticos

Nove sistemas enzimáticos foram selecionados por apresentarem locos e alelos passíveis de interpretação, sendo β -Galactose desidrogenase (GLDH), Álcool desidrogenase (ADH), Fosfatase ácida (ACP), Glucose desidrogenase (GDH), Glutamato desidrogenase (GTDH), Malato desidrogenase (MDH), Peroxidase (PO), Sorbitol desidrogenase (SDH) e Xiquimato Desidrogenase (SKDH) (Tabela 4).

Para *D.mollis*, a partir dos sistemas enzimáticos que apresentaram melhor resolução para a interpretação, obteve-se 10 locos polimórficos, demonstrando que a amostragem é suficiente. Todos os locos obtidos apresentaram estrutura monomérica da enzima. Os sistemas α -Est, β -EST e GOT, apresentaram zona de atividade, entretanto não apresentaram estabilidade para interpretação. Os sistemas IDH, LAP e ME, não apresentaram zona de atividade. O sistema PO apresentou três alelos, porém, descartou-se um destes devido à qualidade visual do alelo mais anódico.

TABELA 4 – Sistemas enzimáticos interpretados para *Dimorphandra mollis* Benth. com seus respectivos números de locos e alelos.

Sistema Enzimático	Sigla	No. Locos	No. Alelos
β -Galactose desidrogenase	GLDH	1	2
Álcool desidrogenase	ADH	1	2
Fosfatase ácida	ACP	2	4
Glucose desidrogenase	GDH	1	2
Glutamato desidrogenase	GTDH	1	2
Malato desidrogenase	MDH	1	2
Peroxidase	PO	1	2
Sorbitol desidrogenase	SDH	1	2
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1	2
Total		10	20

Para a análise da variabilidade genética de populações naturais de espécies arbóreas, o número de locos é importante, sendo este, variável em diferentes espécies. Vieira (2005) analisou 10 locos em *Protium spruceanum*, Moura (2005) 21 locos em *Eremanthus erythropappus*, Melo Júnior (2003) 10 locos polimórficos em *Caryocar brasiliense*, oito locos em populações naturais de *Eugenia desinterica* (Telles, 2003) e cinco locos para *Annona crassiflora*, (Telles et al., 2003). Alguns estudos com espécies florestais, utilizando isoenzimas como marcadores moleculares, têm usado a partir de quatro locos polimórficos (Telles et al., 2003; Ng et al. 2004). Entretanto, Berg & Hamrick (1997) sugerem a utilização de, no mínimo, 10 locos polimórficos nas análises. Considerou-se que para a espécie *D. mollis* 10 locos foram o suficiente para captar e demonstrar a variabilidade genética nas populações analisadas.

4.2 Frequências alélicas

As frequências de 20 alelos distribuídos em dez locos aloenzimáticos foram obtidas para três populações naturais de *D. mollis*. Esses dados de frequências alélicas são base para as estimativas dos índices de diversidade genética, bem como dos parâmetros quantificadores da estrutura genética, e estão dispostos na Tabela 5.

Na população Campina Verde, as maiores frequências alélicas foram verificadas em ACP-1 (Alelo 2 = 0,678), ACP-2 (Alelo 1 = 0,744), GLDH (Alelo 2 = 0,745), na população de Vargem da Cruz os locos ACP-1 (Alelo 1 = 0,750), ACP-2 (Alelo 1 = 0,774) e ADH (Alelo 2 = 0,706) e, na população Pau de Fruta as maiores frequências foram nos locos ADH (Alelo 2 = 0,646), SDH (Alelo 2 = 0,628) e SKDH (Alelo 2 = 0,627).

TABELA 5. Frequências alélicas e tamanho da amostra (N) em 10 locos aloenzimáticos para populações de *Dimorphandra mollis* Benth.

Loco	Alelo	Populações		
		Campina Verde	Vargem da Cruz	Pau de Fruta
ACP-1	1	0,322	0,75	0,385
	2	0,678	0,25	0,615
	N	45	42	48
ACP-2	1	0,744	0,774	0,781
	2	0,256	0,226	0,219
	N	45	42	48
ADH	1	0,359	0,294	0,354
	2	0,641	0,706	0,646
	N	46	51	48
GDH	1	0,412	0,458	0,4
	2	0,588	0,542	0,6
	N	51	59	50
GLDH	1	0,255	0,387	0,408
	2	0,745	0,613	0,592
	N	47	53	49
GTDH	1	0,419	0,417	0,448
	2	0,581	0,583	0,552
	N	43	60	48
MDH	1	0,34	0,474	0,451
	2	0,66	0,526	0,549
	N	50	57	51
PO	1	0,472	0,602	0,42
	2	0,528	0,398	0,58
	N	53	59	56
SDH	1	0,394	0,407	0,372
	2	0,606	0,593	0,628
	N	47	59	43
SKDH	1	0,561	0,5	0,373
	2	0,439	0,5	0,627
	N	49	58	51

Nas populações de *D. mollis*, alelos com alta frequência (acima de 0,650) foram presentes em poucos locos. A população Campina Verde

apresentou o maior número de alelos com alta frequência, sendo quatro alelos, entre eles ACP-1 (Alelo 2 = 0,678), ACP-2 (Alelo 1 = 0,744), GLDH (Alelo 2 = 0,745) e MDH (Alelo 2 = 0,660). A população Vargem da Cruz apresentou três alelos com alta frequência, ACP-1 (Alelo1 = 0,750), ACP-2 (Alelo1 = 0,774) e ADH (Alelo2 = 0,706) e a população Pau de Fruta apresentou apenas um alelo com alta frequência ACP-2 (Alelo 2 = 0,781) (Tabela 5). Nas populações Vargem da Cruz e Campina Verde, a espécie *D. mollis* é mais explorada e, apresentaram uma maior frequência de alelos acima de 0,70. Na população Pau de Fruta não foram detectados alelos com frequência acima de 0,70. Provavelmente, se a coleta dos frutos das árvores de *D. mollis* nas populações Campina Verde a Vargem da Cruz continuar de forma desordenada, a variabilidade genética destas populações poderá diminuir pelo efeito de endogamia e de deriva genética.

Segundo as frequências alélicas (Figura 2) e, considerando similares dois alelos que apresentam frequências entre 0,350 e 0,650, observou-se que na população Campina Verde 60% dos locos apresentam equidade gênica (ou baixa amplitude de variação), enquanto que, essa proporção é de 70% na população Vargem da Cruz e de 80% na população Pau de Fruta. A população menos explorada, Pau de Fruta, apresenta maior amplitude de variação.

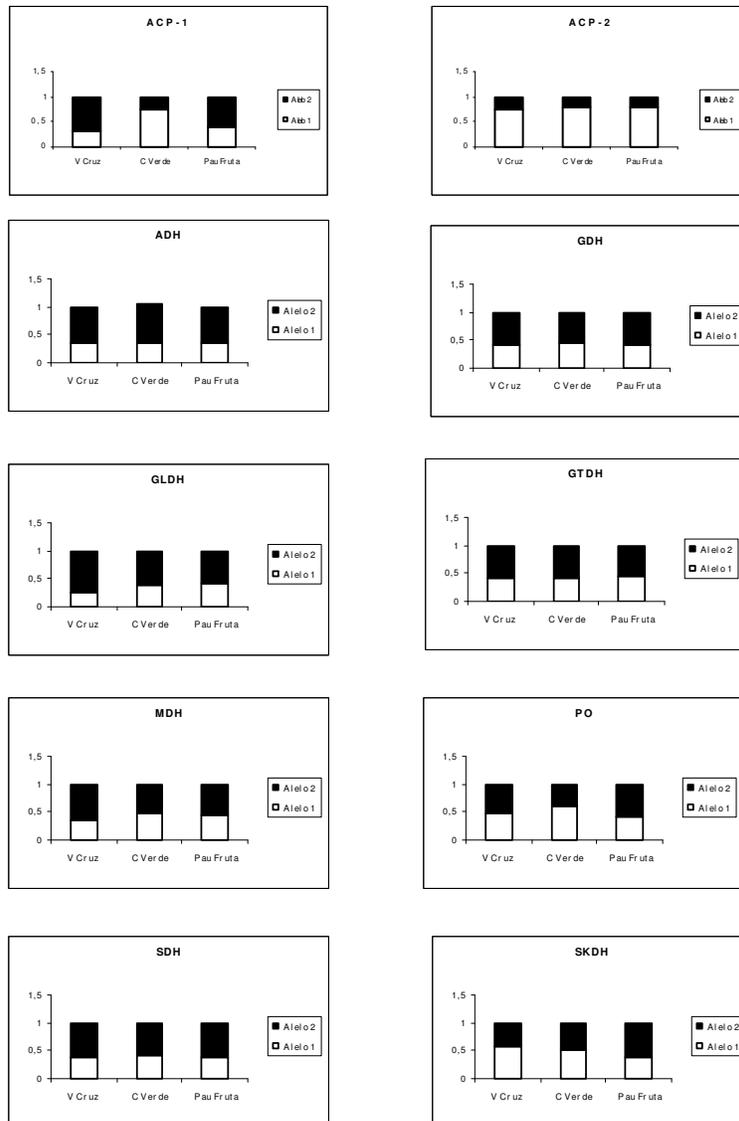


FIGURA 2 – Gráfico das frequências alélicas encontradas nos 10 locos das populações de *Dimorphandra mollis* Benth. (eixo x: populações; eixo y: frequências alélicas).

Segundo Frankel et al. (1996), que conceituam a equidade gênica como aquela na qual a menor variabilidade das frequências alélicas numa espécie é um indicador de maior diversidade e, pode manter as populações menos susceptíveis à fixação e perda de alelos quando submetidas a perturbações e gargalos genéticos. Portanto, a população que apresenta maior diversidade estaria mais protegida dos efeitos de deriva do que as que têm alelos menos frequentes e, estariam mais susceptíveis de serem perdidos. A semelhança nas frequências alélicas das populações Campina Verde e Vargem da Cruz, juntamente com as proporções similares de equidade gênica, sugerem uma baixa divergência entre estas populações e podem ser provenientes de deriva genética devido a exploração destas em relação à população Pau de Fruta.

4.3 Índices de diversidade genética

As estimativas dos índices de diversidade genética geradas pelo programa BIOSYS-2 (1989) foram obtidas a partir das estimativas de frequências alélicas e são apresentadas na Tabela 6.

O percentual de locos polimorficos (\hat{P}), utilizando como critério uma frequência de 99% para o alelo mais comum, foi de 100% nos locos detectados, isso se deve a exclusividade dada para os locos polimórficos nas análises. O número de alelos por loco (\hat{A}) foi de 2,0 em cada uma das populações. Esses valores são próximos aos encontrados para várias espécies arbóreas em estudos utilizando marcadores isoenzimáticos (Bacles et al., 2004; Botrel & Carvalho, 2004; Casiva et al., 2004; Gusson et al., 2005; Vieira, 2005).

A heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) nas populações de *D. mollis* variou de 0,459 a 0,470 e a observada (\hat{H}_o) variou de 0,449 a 0,494. A baixa ocorrência de alelos raros e as frequências alélicas equitariamente distribuídas,

provavelmente contribuíram para essa alta variabilidade. Os valores de heterozigidade encontrados para *D. mollis* são próximos aos relatados na literatura para espécies arbóreas de Cerrado, como o *Stryphnodendron adstringens* cuja \hat{H}_o variou de 0,492 a 0,550 e \hat{H}_e variou de 0,413 a 0,440 (Souza et al., 2005), para a *Annona crassiflora*, a heterozigidade observada variou entre 0,189 e 0,460 (Telles et al., 2003). Valores superiores foram relatados em *Caryocar brasiliense*, a heterozigidade observada variou de 0,583 a 0,817 e a esperada de 0,45 a 0,530 (Melo Júnior, 2003).

Em trabalhos com espécies arbóreas que ocorrem em diferentes biomas, outros valores de heterozigidade foram descritos como em populações naturais de *Escweilera ovata* na Amazônia, \hat{H}_o entre 0,332 a 0,371 e \hat{H}_e entre 0,354 a 0,431 (Gusson, 2003). Para *Eremanthus erythropappus*, em áreas de altas altitudes de Mata Atlântica, encontrou-se \hat{H}_o variando de 0,517 a 0,553 e \hat{H}_e de 0,472 a 0,488 (Moura, 2005). Em *Protium sprucenum*, em fragmentos em áreas de transição entre Cerrado e Mata Atlântica encontrou-se \hat{H}_o de 0,333 a 0,630 e \hat{H}_e de 0,332 a 0,507 (Vieira, 2005).

Valores elevados de heterozigidade são comuns em espécie com alta densidade populacional, pois a maior densidade de indivíduos pode permitir maior número de recombinações resultando em altos níveis de diversidade genética.

Os altos valores de heterozigidade detectados nas populações de *D. molli* sugerem a existência de mecanismos seletivos atuando em favor de heterozigotos. De modo geral, os valores de heterozigidade, aqui obtidos, são próximos aos relatados em outros trabalhos para espécies arbóreas tropicais e de Cerrado como relatados por Sebbenn (2000), Gusson (2003), Souza et al. (2005), Cavallari (2004) e Barreira (2005).

Os valores de heterozigidade encontrados para *D. mollis* são considerados altos e possibilitam a ocorrência de um grande número de novas combinações genóticas, aumentando o potencial evolutivo das espécies, pela maior capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais (Sebbenn et al., 2000). Deste modo, se a exploração desordenada dos frutos for progressiva, principalmente nas populações Campina Verde e Vargem da Cruz, esses índices poderão ser diminuídos comprometendo a variabilidade genética detectada nas áreas analisadas.

TABELA 6. Índices de diversidade genética em populações de *Dimorphandra mollis* Benth., baseados em 10 locos e 20 alelos, em que \hat{A} = número médio de alelos por loco gênico, \hat{H}_o = estimativa de heterozigidade média esperada, \hat{H}_e = estimativa de heterozigidade média observada, \hat{f} = estimativa do índice de fixação de Wright.

	Populações		
	Campina Verde	Vargem da Cruz	Pau de Fruta (3)
\hat{A}	2,0	2,0	2,0
$P_{0,05}$	100,0	100,0	100,0
\hat{H}_o	0,449 (0,071)	0,494 (0,058)	0,462 (0,018)
\hat{H}_e	0,459 (0,014)	0,460 (0,017)	0,470 (0,014)
\hat{f}	0,023 ^{ns}	-0,075 ^{ns}	0,017 ^{ns}
	[-0,253 a 0,267]	[-0,262 a 0,134]	[-0,074 a 0,109]
N	60	60	60

N = Número de indivíduos da população; () = erro padrão; [] = intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%); $P_{0,05}$ = Porcentagem dos locos polimórficos

A relação entre as heterozigidades médias observadas e as esperadas forneceu o índice de fixação (\hat{f}) não significativo para as populações. Para os indivíduos amostrados na população Campina Verde obteve-se \hat{f} de 0,023, para Vargem da Cruz \hat{f} de -0,075, que apesar de não significativo, demonstra que

esta população tem certa tendência a endogamia a longo prazo, esse índice pode ser influenciado por deriva genética. Para a população Pau de Fruta, obteve-se \hat{f} de 0,017. Seria importante que estudos fossem feitos com próximas gerações para que se averiguasse se ocorre ou não a manutenção de heterozigotos nas populações e se apurasse os efeitos de deriva genética para a espécie *D. mollis*.

4.4 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O EHW tem como premissas cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, deriva genética, seleção e tamanho infinito das populações (Metter e Creg, 1973; Futuyma, 1992; Póvoa, 2002; Melo Júnior, 2003; Moura, 2005). Sob estas premissas é esperado que uma população panmítica mantenha inalteradas as frequências alélicas a cada geração. Como nesse trabalho não foram estudadas as progênies, os resultados e análises obtidas têm por base os indivíduos adultos. Dessa forma, foram realizadas verificações sobre o ajuste das proporções genotípicas ao modelo EHW.

As populações estudadas foram submetidas à verificação da aderência de EHW (Tabela 7). Para essa análise, utilizou-se o teste exato de Fisher. Os testes exatos são utilizados quando se têm tamanhos amostrais pequenos, para os quais há maior chance de haver números esperados reduzidos, podendo ser aplicados a amostras maiores, quando a existência de alelos raros leva também a números esperados pequenos (Weir, 1996). Gomes (1990) citado por Melo Júnior (2003), considera que o teste χ^2 não deve ser utilizado quando a frequência esperada mínima for menor que 1 e quando não mais de 20% das frequências esperadas forem menores que 5, pois o valor χ^2 resultante será viesado e não poderá ser legitimamente comparado com os valores da distribuição (Zar, 1984).

De forma geral, os locos GLDH e MDH apresentaram-se aderidos ao EHW para as populações da espécie *D. mollis* analisadas. Na população Pau de Fruta, apenas 10 % dos locos tiveram valores significativos, percebe-se que 90% dos locos estão aderidos ao EHW. Provavelmente isto deve-se ao fato de que esta população é mais conservada em relação ao extrativismo de seus frutos.

Uma outra possibilidade é a localização desta população que se encontra em uma área pouco acessível, dificultando a presença do extrativismo, que diferencia o equilíbrio das outras duas populações. As populações Campina Verde e Vargem da Cruz localizam-se em áreas onde o extrativismo é alto, e possivelmente isto contribui para que a não aderência destas populações ao EHW seja elevada.

A população Campina Verde, apresentou 50% dos locos com valores significativos, destes 30% com $P < 0,01$ e 20% com $P < 0,05$, ou seja, os outros 50% dos locos dessa população estão em EHW. Na população Vargem da Cruz, os resultados foram os mesmos, sendo 50% dos locos mostraram valores não significativos, o que corresponde a locos aderidos ao EHW. Estes resultados podem ser provenientes de deriva genética em função do tamanho destas populações.

Para o loco PO, foram detectados desvios significativos ao modelo de EHW nas três populações e, o loco ADH apresentou desvio nas populações Campina Verde e Vargem da Cruz (Tabela 7). Tais desvios significativos foram resultantes do excesso de heterozigotos, verificado nestes locos. Segundo Futuyma (1992), a frequência relativa dos alelos em locos aderidos ao EHW deve permanecer a mesma de uma geração para outra e apenas a redistribuição dos alelos dentro dos genótipos da nova geração poderá alterar a composição genética da população.

TABELA 7. Probabilidades do teste exato de Fisher para a hipótese do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, para as populações de *Dimorphandra mollis* (Benth).

Locos	P (Fisher)		
	Populações		
	Campina Verde	Vargem da Cruz	Pau de Fruta
ACP1	0,0231*	0,0506 ^{ns}	0,2546 ^{ns}
ACP2	0,0001**	0,1027 ^{ns}	0,0524 ^{ns}
ADH	0,0016**	0,0214*	0,2022 ^{ns}
GDH	0,4341 ^{ns}	0,0001**	1,0000 ^{ns}
GLDH	0,4144 ^{ns}	0,2639 ^{ns}	0,9231 ^{ns}
GTDH	0,1224 ^{ns}	0,0190*	0,8291 ^{ns}
MDH	0,1618 ^{ns}	0,1383 ^{ns}	0,7227 ^{ns}
PO	0,0000**	0,0003**	0,0232*
SDH	0,4334 ^{ns}	0,0019*	0,5337 ^{ns}
SKDH	0,0081*	0,1892 ^{ns}	0,9625 ^{ns}

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

4.5 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992) para os indivíduos de *D. mollis* encontram-se na Tabela 8. As estimativas médias obtidas mostraram que existe endogamia entre o conjunto das populações ($\hat{F} = 0,007$), embora seja não significativa com um intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

As análises das populações revelam, em média, um maior número de heterozigotos ($\hat{f} = -0,018$), sugerindo que as populações não tendem a endogamia. Os coeficientes médios de endogamia foram não significativos, demonstrando o esperado pelas proporções de EHW.

TABELA 8. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}) e da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) para as populações de *Dimorphandra mollis* (Benth.).

Loco	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$
ACP1	0,270	0,402	0,180
ACP2	0,202	0,193	-0,011
ADH	-0,312	-0,314	-0,001
GDH	-0,144	-0,149	-0,004
GLDH	-0,084	-0,063	0,019
GTDH	-0,032	-0,041	-0,008
MDH	0,011	0,021	0,011
PO	-0,015	0,011	0,027
SDH	-0,215	-0,223	-0,006
SKDH	0,190	0,210	0,024
Média	-0,018 ^{ns} [-0,126 a 0,090]	0,007 ^{ns} [-0,118 a 0,139]	0,025 ^{ns} [-0,0004 a 0,065]

[]= intervalo de confiança

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade

A divergência genética entre populações foi baixa ($\hat{\theta}_p = 0,025$). Isto significa que aproximadamente 2,5% da variabilidade genética encontra-se entre as populações e que 97,5% desta variabilidade ocorre dentro das populações. A divergência encontrada neste trabalho (2,5%) está de acordo com o observado em outras espécies arbóreas tropicais, ou seja, a maior proporção da variabilidade genética encontra-se dentro das populações (Botrel & Carvalho, 2004; Dayanandan et al., 1999; Melo Júnior et al., 2004; Moraes et al., 1999; Moura, 2005; Pinto & Carvalho, 2004; Pinto et al., 2004; White et al., 1999; Vieira, 2005).

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).

Considerando que *D. mollis* é uma espécie alógama, a baixa divergência genética observada entre as populações era esperada. Adicionalmente, as frequências alélicas, em geral, equitariamente distribuídas nas populações é um indicio de fluxo gênico atuando como homogeneizador destas frequências, contribuindo com a menor variabilidade genética observada entre o conjunto de populações.

A distância genética expressa a diferença entre as populações estudadas, baseada no índice de diversidade ($\hat{\theta}_p$). Com esses dados é possível visualizar, a partir de um dendrograma, as relações mantidas entre as populações, agrupando-as de acordo com sua proximidade genética. As estimativas de distância e identidade genéticas são mostradas na Tabela 9.

TABELA 9. Distância (abaixo da diagonal) e identidade genéticas (acima da diagonal) entre as populações de *Dimorphandra mollis* (Benth).

Populações	Campina Verde	Vargem da Cruz	Pau de Fruta
Campina Verde	-	0,9616	0,9943
Vargem da Cruz	0,0498	-	0,9389
Pau de Fruta	0,0073	0,0786	-

Observa-se que a menor identidade genética entre os indivíduos de *D. mollis* encontra-se entre os indivíduos das populações Campina Verde e Pau de Fruta, seguida por Campina Verde e Vargem da Cruz e entre as populações Pau de Fruta e Vargem da Cruz (Tabela 9). Existe coerência entre as estimativas de heterozigosidade e equidade gênica presente nas populações. Percebe-se que, as populações Campina Verde e Pau de Fruta são mais próximas em relação a sua identidade genética (0,994). Essas populações estão geograficamente mais próximas entre si, seguidas pelas populações Campina Verde e Vargem da Cruz (0,9612). A maior distância genética detectada foi entre as populações Pau de

Fruta e Vargem da Cruz (0,9389), vale ressaltar que estas populações estão distantes entre si, 11 km. Assim, considerando as estimativas de divergência entre cada população, a posição geográfica pode estar favorecendo o fluxo entre as populações mais próximas e possivelmente diminuindo a atuação do fluxo gênico entre as populações mais distantes.

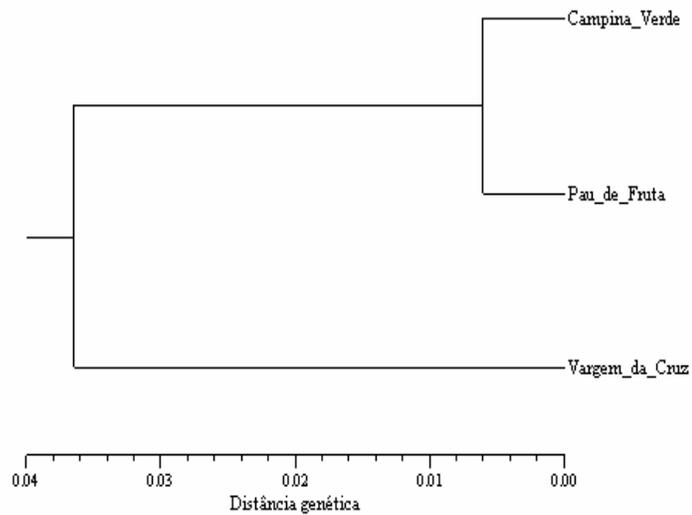


FIGURA 3. Análise de agrupamento da divergência genética (UPGMA) entre as populações de *Dimorphandra mollis* Benth.

A matriz de divergência genética foi utilizada como base para a construção de um dendrograma pelo método UPGMA, que sugere a existência de um padrão hierárquico de semelhança genética da forma [(Campina Verde, Pau de Fruta],[Vargem da Cruz)]. Vargem da Cruz foi a população mais distante geneticamente das outras, porém, pelas identidades genéticas estes valores se mostram pouco significativos (Figura 3). A maior semelhança genética entre os indivíduos de *D. mollis* das populações Pau de Fruta e

Campina Verde, possivelmente é devido a maior proximidade geográfica entre estas. O coeficiente de correlação cofenética, que avalia a existência dos agrupamentos obtidos foi de $r_C = 0,81$, pode-se considerar que há correlação entre a distância e a divergência genética nas populações.

4.6 Fluxo gênico aparente

O fluxo gênico é um termo coletivo que inclui todos os mecanismos que resultam no movimento de alelos de uma população para outra (Slatkin, 1985). A partir das medidas de divergência genética entre as populações pode-se inferir sobre o fluxo de genes entre estas. Em grande parte dos casos, as estimativas de fluxo gênico consideram o modelo de migração de ilhas, no qual pequenas populações trocam alelos aleatoriamente entre si, independente de sua posição geográfica. No entanto, Slatkin & Barton (1989) consideram que os modelos contínuos, como o isolamento por distância, são mais realistas para a maioria das espécies de plantas. Desta forma, o conceito de tamanho efetivo populacional ou tamanho de vizinhança, \hat{N}_b , proposto por Wright (1943) torna-se mais adequado para estes casos.

Neste trabalho, as estimativas de fluxo gênico foram realizadas a partir da relação entre a divergência genética entre as populações e a quantidade de migrantes, esta estimativa é uma medida aparente não real, pois é uma medida indireta (Tabela 10). As estimativas de fluxo gênico \hat{Nm} encontradas para o conjunto das populações foi de 4 migrantes por geração, indicando considerável fluxo gênico aparente.

Utilizando a abordagem proposta por Slatkin & Barton (1989) foi possível estabelecer o tamanho de vizinhança para *D. mollis*. A estimativa do número de genitores que trocam alelos ao acaso ou vizinhança \hat{N}_b foi de 25

indivíduos. Segundo Slatkin & Barton (1989), os valores de $\hat{N}m$ e \hat{N}_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Se estes valores forem superiores a 1,0, então o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir diferenciação devido à deriva genética.

Entre as populações Campina Verde e Vargem da Cruz o fluxo gênico $\hat{N}m$ foi de 1,4, entre Campina Verde e Pau de Fruta foi de 8,8 migrantes por geração e entre Vargem da Cruz e Pau de Fruta foi de 1,9. Entre as três populações, pode-se verificar que, entre Campina Verde e Pau de Fruta, os valores estimados de fluxo gênico indicam maior similaridade entre as populações, tendendo a ocorrer a homogeneização dos alelos. Possivelmente há relação entre fluxo gênico e distância geográfica entre essas populações, pois elas localizam-se em uma menor distância (5,24km). Essas duas populações apresentaram maior tamanho de vizinhança $\hat{N}_b=56$. Estes valores são coerentes, tendo em vista a menor divergência entre estas duas populações (0,007). De acordo com as estimativas obtidas para os outros dois conjuntos de populações de *D. mollis*, Campina Verde e Vargem da Cruz e, Vargem da Cruz e Pau de Fruta, os valores, foram suficientes para contrapor os efeitos da deriva genética. Segundo Hartl & Clark (1997), quando o fluxo gênico entre populações excede 4 migrantes por geração, ocorre homogeneização dos alelos entre estas, que funcionam como populações panmíticas. Altos níveis de fluxo gênico diminuem a perda de diversidade genética e mantém a viabilidade das populações a longo prazo (White et al, 2002).

Em geral, os altos valores de $\hat{N}m$ e \hat{N}_b estimados podem decorrer, entre outros fatores, pelo grande tamanho populacional da espécie na área estudada e pelos mecanismos eficientes de dispersão de sementes e pólen,

resultando na alta variação genética entre populações geograficamente mais distantes entre si (Hamrick & Loveless, 1986; Loveless & Hamrick, 1984).

A baixa divergência genética encontrada para o conjunto de populações naturais de *D. mollis* não se deve somente ao fluxo genético atual e, a espécie dentro de suas populações deve possuir algum mecanismo para não se manter geneticamente similar, ou seja, favorecer mecanismos de seleção a favor de heterozigotos.

Estimativas de fluxo gênico encontradas na literatura, como para *Cariniana legalis* (Sebbenn, 2001), *Caryocar brasiliense* (Melo Júnior, 2003), *Eremanthus erytropappus* (Moura, 2005), indicam que a movimentação dos alelos ocorrem a longas distâncias em espécies tropicais e, portanto, os processos microevolutivos envolvem várias populações ou grupos mais distanciados. Segundo Reis (1996), numa concepção envolvendo o fator tempo, o conjunto de alelos deve estar sendo compartilhado por grupos grandes de indivíduos, formando metapopulações.

TABELA 10. Fluxo gênico (\hat{Nm}), estimativas indiretas das vizinhanças (\hat{N}_b) obtido a partir de estimativas de divergências genética ($\hat{\theta}_p$) das populações de *Dimorphandra mollis* Benth. N: número de indivíduos analisados; np: número de populações analisadas

Populações	N	Np	$\hat{\theta}_p$	\hat{Nm}	\hat{N}_b
Campina Verde e Vargem da Cruz	60	2	0,042 [-0,0015 a 0,112]	1,4	9
Campina Verde e Pau de Fruta	60	2	0,007 [-0,0065 a 0,022]	8,9	56
Vargem da Cruz e Pau de Fruta	60	2	0,031 [-0,004 a 0,083]	1,9	12
Todas as populações	180	3	0,025 [-0,004 a 0,072]	4,0	25

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

Existe relação entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas estimadas ($r_C = 0,81$), verificada pelo Teste de Mantel (Manly, 1997), evidenciando a baixa divergência genética e o considerável fluxo gênico de *D. mollis* entre as populações espacialmente muito próximas (Figura 4). A fim de proceder a investigações mais apuradas para a análise espacial da variabilidade genética interpopulacional, em futuros estudos seria interessante que se amostrassem maior número de populações e que estas fossem em mais localidades (Gonzales & Hamrick, 2005; Slatkin & Barton, 1989; van Rossum & Prentice, 2004; Wright, 1943, Vieira, 2005). Essas informações iriam contribuir ainda na elaboração de um programa efetivo de conservação *in situ* e de coleta, conservação e exploração do germoplasma (Telles et al., 2003).

4.7 Distribuição espacial dos genótipos

A distribuição espacial dos genótipos de *D. mollis* dentro de cada população foi obtida por meio de estimativas do coeficiente de coancestria de Ritland (1996) ($\hat{\theta}_{xy}$) entre plantas, e para a população Vargem da Cruz utilizou-se o índice *I* de Moran, para cada uma das dez classes de distância.

Gusson et al. (2005) consideram que estimativas acuradas de coancestria e parentesco são difíceis de serem obtidas, quando não há informações sobre o pedigree do material, requerendo um grande número de locos polimórficos e com um número relativamente alto de alelos.

Para a espécie *D. mollis*, as figuras 5, 6 e 7 é o demonstrativo gráfico do coeficiente de coancestria dos indivíduos para as populações Campina Verde, Vargem da Cruz e Pau de Fruta respectivamente. As figuras 8 e 9 demonstram a estimativa *I* de Moran para as populações Campina Verde e Vargem da Cruz, respectivamente. Dentre as populações estudadas, os coeficientes de

coancestralidade se mostraram não significativos para a população Pau de Fruta. Não foi detectada estruturação espacial dos genótipos, pelo índice *I* de Moran, nos genótipos da população Pau de Fruta. Entretanto, para as populações Campina Verde e Vargem da Cruz observa-se uma tendência a estruturação espacial na primeira classe de distância e, utilizando-se o índice *I* de Moran, detectou-se essa estruturação espacial dos genótipos. Isso demonstra que os indivíduos mais próximos espacialmente, nessa população, podem ser aparentados. A partir desses resultados, torna-se necessário investigar como se organiza espacialmente a variabilidade genética nas populações de *D. mollis*. E, se possível desenvolver estudos relacionados às progênies para essa verificação.

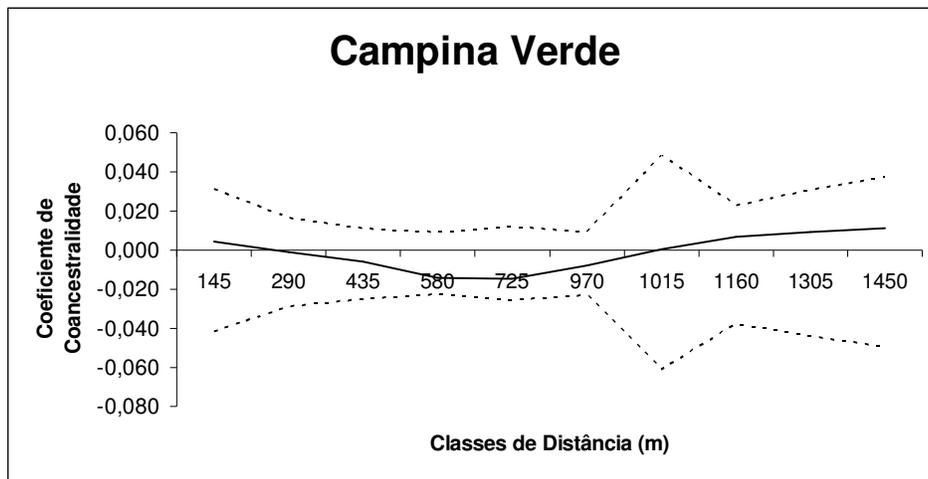


FIGURA 5. Correlograma para coeficiente de coancestria estimado por classes de distâncias na população Campina Verde da espécie *Dimorphandra mollis* Benth. (coeficiente de coancestria; --- intervalo de confiança a 95% de probabilidade)

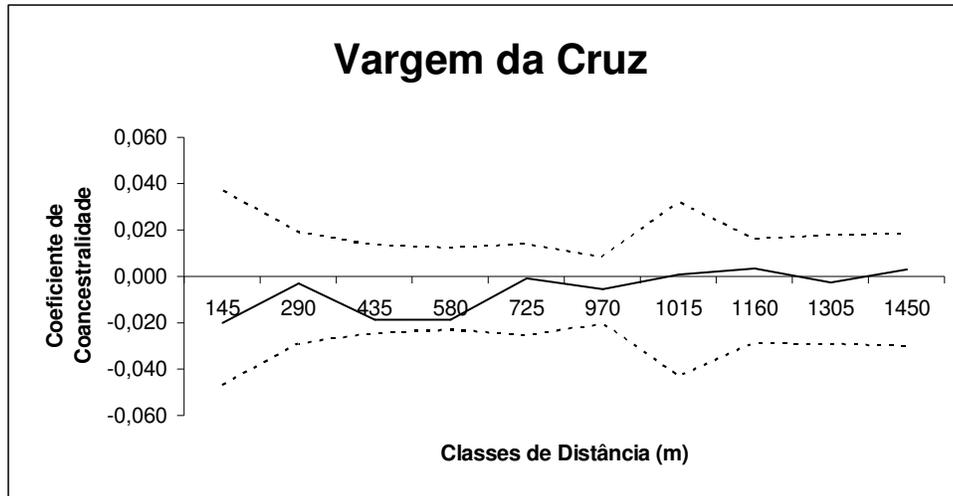


FIGURA 6. Correlograma para coeficiente de coancestria estimado por classes de distâncias na população Vargem da Cruz da espécie *Dimorphandra mollis* Benth. (coeficiente de coancestria; --- intervalo de confiança a 95% de probabilidade).

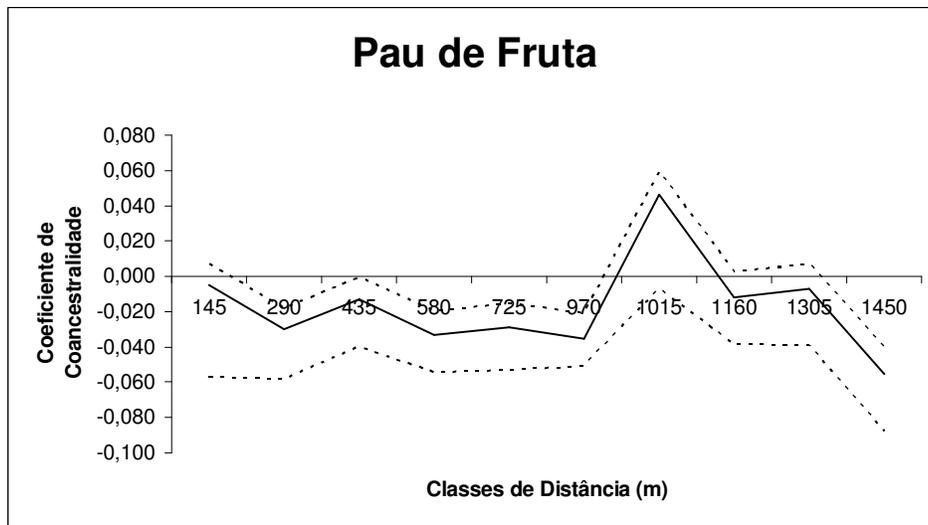


FIGURA 7. Correlograma para coeficiente de coancestria estimado por classes de distâncias na população Pau de Fruta da espécie *Dimorphandra mollis* Benth. (coeficiente de coancestria; --- intervalo de confiança a 95% de probabilidade).

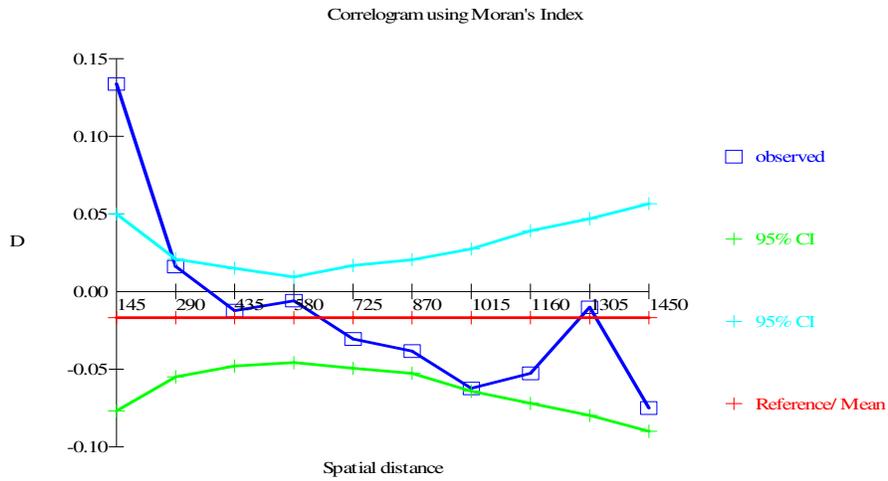


FIGURA 8. Correlograma do índice I de Moran para dez classes de distâncias na população Campina Verde da espécie *Dimorphandra mollis* Benth.

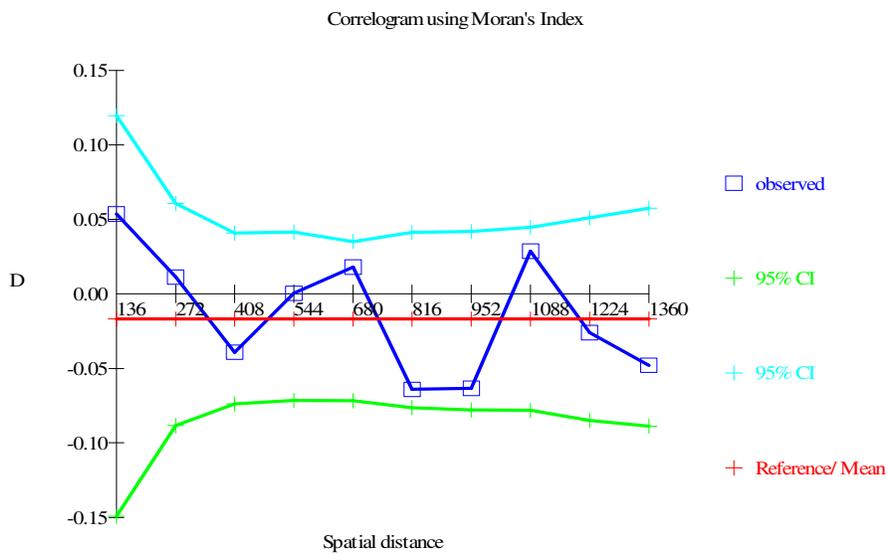


FIGURA 9. Correlograma do índice I de Moran para dez classes de distâncias na população Vargem da Cruz da espécie *Dimorphandra mollis* Benth.

A população Campina Verde, assim como a população Vargem da Cruz apresentaram estruturação espacial nas suas primeiras classe de distância (145 e 136 m respectivamente). A presença de estruturação espacial dos indivíduos em populações naturais de espécies arbóreas tem sido verificada em diversos estudos (Moraes et al., 2004; Silva et al., 2004; Barreira, 2005; Gusson et al., 2005; Moura, 2005). Considerando a hipótese que condições ecológicas semelhantes como clima, solo e altitude podem levar a similaridade genética entre indivíduos (Graudal et al., 1997) e que, a dispersão do pólen e sementes dentro das populações muitas vezes podem ser limitadas às vizinhanças da matriz, supõe-se que árvores mais próximas apresentam maior proximidade genética do que árvores mais distantes espacialmente (Sokal & Menozzi, 1982; Graudal et al., 1997). Futuyama (1992) considera que em uma população existem limitações físicas que podem dificultar os cruzamentos aleatórios, devendo haver maior probabilidade de cruzamentos entre indivíduos mais próximos, o que por sua vez pode levar à formação de grupos, estruturando a população.

Pode-se verificar ausência de estruturação espacial na população natural da espécie *D. mollis*, Pau de Fruta (Figura 7). Este resultado é coincidente com os detectados em *Caryocar brasiliense* (Melo Júnior, 2003), *Psycotria nervosa* (Dewey & Heywood, 1988), *Platypodium elegans* (Hamrick et al., 1993), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996; Póvoa, 2002), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997). A ausência de estruturação sugere que os genótipos estão distribuídos aleatoriamente nas áreas.

O padrão aleatório de variação genética espacial da espécie pode ser atribuído ao intenso fluxo gênico encontrado, este fator pode prevenir a formação de estrutura, evitando divergências locais. No caso da *D. mollis*, o alto fluxo pode ocorrer em função de suas sementes serem dispersas por mamíferos. As populações mais próximas geograficamente contam com os polinizadores que apesar de pequenos insetos, promovem troca genética.

4.8 Tamanho efetivo

O tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) é um parâmetro fundamental quando se pensa em conservações *ex situ* e *in situ*, pois ele trata da representatividade genética das amostras de plantas, sementes ou propágulos. Como as estimativas dos tamanhos efetivos indicam a representatividade genética das amostras a partir das frequências alélicas, alguns autores (Moura, 2005; Moraes, 1997) ressaltam que certos fatores dinâmicos afetando a distribuição das frequências dos alelos devem ser consideradas. Frankel et al. (1995) atentam também que as flutuações do tamanho populacional entre gerações, a variação na fertilidade entre indivíduos e a sobreposição de gerações, podem influenciar o tamanho efetivo populacional.

A partir dos coeficientes de divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$), coeficientes de endogamia das populações (\hat{f}) e coeficientes de endogamia para o conjunto de populações (\hat{F}) foram obtidas as estimativas de tamanho efetivo (Tabela 11). Os resultados mostram que os tamanhos efetivos estimados para cada população foram próximos do número de indivíduos amostrados. A estimativa do \hat{N}_e é feita em função dos índices de fixação (\hat{f}) (Vencovsky, 1992). Como esse índice apresentou variação nas populações, porém não significativos, pode-se considerar que todas as populações estão em EHW. Se o excesso de heterozigotos, indicado pelos índices de fixação negativos, tivesse sido mais expressivo, os indivíduos amostrados estariam representando geneticamente mais indivíduos da população, com valores de \hat{N}_e bem mais elevados, pois em condições de heterozigose, a representatividade dos indivíduos amostrados é maior (Sebbenn et al., 2003).

De acordo com o resultado obtido para o conjunto das populações de *D. mollis*, a coleta de sementes para conservação *ex situ* deverá contemplar, pelo menos, 43 árvores matrizes coletadas de forma aleatória nas três populações, respeitando-se no mínimo 150m entre os indivíduos garantindo assim, a manutenção da variabilidade genética. Vencovsky (1987) considera que para a coleta de sementes e conservação de germoplasma, é fundamental que se faça o controle gamético feminino, coletando-se sementes de um maior número possível de plantas genitoras (matrizes) e, de preferência, em número igual de cada uma. Com esta prática, reduz-se a variância do número de gametas contribuídos pelas plantas genitoras e aumentando o tamanho efetivo. Portanto, as plantas genitoras devem ser tomadas ao acaso e não suas sementes.

O conhecimento do tamanho efetivo populacional é também de grande importância para o planejamento da conservação *in situ*, pois a relação entre o tamanho efetivo e o tamanho da amostra (\hat{N}_e / N) permite a estimativa da população mínima viável (PMV), correspondendo ao número de indivíduos necessários à população para a manutenção de sua integridade genética. Tomando-se como base os valores de \hat{N}_e (referência) iguais a 150 e 1.500 para cada população (Nunney & Campbell, 1993), a PMV para o conjunto das populações é de 600 e 6000 indivíduos, para a conservação a curto e a longo prazo respectivamente (Tabela 11). Estes valores referem-se ao número mínimo de árvores que deverão ser mantidas, assegurando a manutenção dos níveis de variabilidade genética, para as populações aqui avaliadas.

TABELA 11. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (N) das populações, a diferença \hat{D} entre o tamanho populacional estimado e a população mínima viável (PMV) requerida para as populações naturais e, A a área amostrada para cada população de *Dimorphandra mollis* Benth.

Populações	\hat{N}_e	N	\hat{N}_e/N	150*		1500*		A (ha)
				PMV	\hat{D}	PMV	\hat{D}	
Campina Verde	59	60	0,98	153	1.312	1.531	- 66	134
Vargem da Cruz	65	60	1,08	139	2.025	1.389	775	198
Pau de Fruta	59	60	0,98	153	1.104	1.531	- 274	115
Conjunto	43	180	0,25	600	-	-	6000	-

* Tamanho efetivo de referência (\hat{N}_e): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo)

Segundo Vieira (2005), a diferença (\hat{D}) entre o tamanho populacional estimado para cada população (\hat{N}) e a PMV é calculada por: $\hat{D} = DA.A - (\hat{N}_{e(referência)} / (\hat{N}_e/n))$, sendo que DA é a densidade absoluta (ind.ha⁻¹), A é área da população (ha). Para *D. mollis*, a densidade utilizada foi DA = 10,93 (ind.ha⁻¹) conforme citado por Barreira et al. (2002).

As estimativas de tamanho efetivo encontradas para as populações estudadas afirmam uma tendência destas à endogamia. A população Vargem da Cruz possui a longo prazo, 775 indivíduos; já as populações Campina Verde e Pau de Fruta, possuem um déficit de 66 e 274 indivíduos respectivamente, para se manterem conservadas a longo prazo, podendo prejudicar a integridade gênica das mesmas populações. Estes resultados podem ser explicados pelos índices de diversidade genética, tais como o coeficiente médio de endogamia encontrado para esta população. Assim, estratégias de conservação para esta espécie deve ser implementada, considerando que para as populações que já

sofrem intervenção da exploração há menor variabilidade genética, indivíduos devem ser preservados tanto na Campina Verde como na Vargem da Cruz como árvores matrizes. Para a coleta dos frutos de *D. mollis* seria de grande importância que, a partir do tamanho efetivo dessas populações, fossem deixadas cotas para que os frutos amadurecessem e houvesse a dispersão destes nas áreas, por sementes visando à propagação natural, uma vez que uma grande quantidade de frutos é coletada, sem critérios que visem à conservação. Para a *D. Mollis*, isto seria muito importante, tendo em vista a relevância que a espécie tem para as populações tradicionais.

4.9 Subsídios ao manejo e à conservação genética de populações naturais de *D. mollis*

Com base no conhecimento genético e ecológico da espécie *D. mollis*, a proposição de recomendações gerais à prática do manejo dessa espécie em áreas naturais é possível, orientando a exploração adequada de seus frutos pelas populações locais e para se determinar o uso de estratégias de conservação genética da espécie.

A visitação nas áreas pelos coletores, sendo que alguns possuem conhecimento sobre a dinâmica da espécie *D. mollis*, faz com haja boas perspectivas à conservação genética da espécie. Entretanto, devem-se considerar estratégias em curto, em médio prazo e em longo prazo, que sejam viáveis com a realidade dos coletores.

A atividade de extração dos frutos deve ser reconhecida como tradicional e, portanto, deve-se elaborar um método de extração respeitando-se a necessidade de se estabelecer no mínimo 43 árvores porta-sementes distribuídas entre as três áreas estudadas, visto que a coleta dos frutos de *D. mollis* ocorre quando estes estão verdes.

Gentry (1978) aponta que diferentes formas de distúrbios provocados por ações antrópicas podem determinar influências diferenciadas sobre populações de plantas, muitas vezes favorecendo o aumento da densidade de certas espécies. Em populações naturais de *Escweilera ovata*, na Amazônia, observou-se uma expressiva regeneração assexuada nas áreas sob extração intensiva (Gusson, 2003). Cavallari Neto (2004) avaliou os efeitos do manejo em *Tabebuia cassinoides* e relatou que esta prática afetou principalmente o número médio de alelos por locos e os níveis de heterozigosidade. Sebbenn et al. (2001) compararam para populações manejada e não manejada de *T. cassinoides* e detectaram menor variabilidade genética e uma maior taxa de autofecundação na população manejada em relação a não manejada.

Para a *D. mollis*, em estudo em área de cerrado *sensu stricto*, Mello (1999), aponta a espécie entre outras, com facilidade de regeneração natural, altos valores de área basal e boa distribuição no estrato vertical, Mendonça (2000), aponta a vantagem desta se regenerar a partir da rebrota de cepa, que caracterizou a estrutura e a distribuição espacial de diversas espécies em planos de manejo avaliados na Cerrado do Norte e Noroeste de MG, e aponta esta, como uma das espécies que apresentam maior frequência total relativa (FR = 3,15) no Norte e Noroeste de MG, mostrando-se como promissora para manejo nessa região.

Para a espécie *D. mollis*, a população conservada (Pau de Fruta) apresenta maior amplitude de variação nas frequências alélicas em relação as populações exploradas (Campina Verde e Vargem da Cruz). Isso indica que, se as populações fossem submetidas a perturbações ou gargalos genéticos, como é o caso da exploração pela coleta de seus frutos, os indivíduos na população Pau de Fruta estariam mais protegidos dos efeitos de deriva. Deve-se observar que a coleta dos frutos, pode ser prejudicial impedindo a dispersão de novo material genético nas populações, que apresentam fluxo gênico entre elas provavelmente

através da polinização e dispersão, mas se a coleta dos os frutos se dá de forma predatória inviabiliza a dispersão desse material genético. Já as populações Vargem da Cruz e Campina Verde esse fator já não seria tão provável.

Essa espécie, por apresentar alta densidade populacional (Mendonça, 2000; Mello, 1999) permite maior número de recombinações, resultando em altos índices de diversidade (\hat{f} de 0,023 para a população Campina Verde, \hat{f} de -0,075 para a população Vargem da Cruz e \hat{f} de 0,017 para a população Pau de Fruta) dentro de suas populações, porém, deve-se avaliar com critérios a coleta dos frutos uma vez que este se dá com as vagens ainda verdes, prejudica a disseminação do material genético.

Assim, apontaremos alguns critérios que devem ser considerados para o manejo de espécies arbóreas: 1) para adoção de medidas para o manejo, deve-se considerar não somente o histórico de perturbação da área, mas também seus níveis de variabilidade genética, estabelecidos para populações regionais, numa amplitude não muito grande, pois esses valores são obtidos a partir de populações definidas geograficamente e representam localmente a variação; 2) não deve-se considerar somente as frequências relativas e os índices de valor de importância, mas também o índice de fixação de Wright, calculado para cada região em questão, e demonstra a tendência das populações à endogamia, para a *D. mollis* os genótipos não são efetivamente eliminados das populações pelo extrativismo mas, diminui-se a possibilidade de dispersão destes nas áreas prejudicando posteriores eventos reprodutivos; 3) deve-se considerar a distribuição espacial dos genótipos, pois para muitas espécies arbóreas, esse resultado se apresenta de forma similar. Pode-se verificar pela distribuição espacial que os indivíduos das populações Campina Verde e Vargem da Cruz tendem a uma estruturação espacial na menor classe de distância. Para o manejo, deve-se considerar essa estruturação, para proporcionar maior variabilidade nas

populações em longo prazo, as populações mais exploradas, demonstraram que os indivíduos mais próximos se cruzam e são aparentados, uma contribuição do manejo é que dependendo da estruturação das populações se manejem os indivíduos muito próximos respeitando a adoção de árvores matrizes; 4) deve-se avaliar a matriz dessas populações uma vez que esta irá interferir no fluxo gênico diretamente, dificultando ou contribuindo com a polinização, a população Vargem da Cruz por estar mais isolada geograficamente e ser frequentemente explorada, a longo prazo pode ter sua base genética comprometida; 5) O conhecimento do tamanho efetivo populacional torna-se de grande importância não só para o planejamento da conservação *in situ* mas também para o manejo, pois a relação permite a estimativa da população mínima viável (PMV), correspondendo ao número de indivíduos necessários à população para a manutenção de sua integridade genética, calcula os para curto e longo prazo. A manutenção de um tamanho efetivo populacional adequado diminui a probabilidade de ocorrência das oscilações genéticas e da endogamia em populações naturais, pois estes parâmetros estão diretamente relacionados ao tamanho efetivo populacional.

De forma geral, para o manejo de populações naturais de espécies arbóreas, deve-se considerar a constituição genética dos indivíduos e das populações de espécies de interesse para a exploração. Essa constituição é responsável por parte das diferenças de produtividade, adaptação e reprodução entre indivíduos de uma espécie. Assim, recomenda-se para que o manejo seja considerado viável e adequado, um número efetivo de indivíduos na população e sua distribuição espacial na área.

5. CONCLUSÕES

O estudo das populações naturais de *Dimorphandra mollis* Benth, por meio de dados isoenzimáticos possibilitou chegar às seguintes conclusões:

- A espécie apresenta altos níveis de variabilidade genética detectada, a partir dos dados de frequência alélica. Porém, a população Pau de Fruta possui maior amplitude de variação, evidenciando o potencial de se ter áreas de conservação neste local, o que vai proporcionar a manutenção genética;
- As populações Campina Verde e Vargem da Cruz não estão em EHW, possivelmente em decorrência do excesso de heterozigotos, a população Pau de Fruta está aderida ao EHW, provavelmente por ser mais conservada;
- Os altos índices de diversidade encontrados sugerem a existência de mecanismos seletivos atuando a favor dos heterozigotos, nas populações Campina Verde e Pau de Fruta. Na população Vargem da Cruz, que sofre pressão do extrativismo, observou-se baixo índice de diversidade, sugerindo tendência a endogamia;
- A maior parte da variabilidade genética da espécie encontra-se dentro de suas populações naturais;
- O fluxo gênico encontrado entre as populações Campina Verde e Pau de Fruta foi elevado, caracterizando baixa divergência genética entre elas. Nas populações Pau de Fruta e Vargem da Cruz o fluxo gênico foi menor, evidenciando a maior divergência genética entre elas;
- A estimativa de tamanho efetivo populacional sugere um valor mínimo de matrizes para a coleta de germoplasma de pelo menos 43 indivíduos para que se garanta a manutenção da variabilidade genética nas sementes
- A PMV para a manutenção da espécie em curto e em longo prazo é 600 e 6000, respectivamente;

- Na população Vargem da Cruz, os indivíduos de *D. mollis* apresentam tendência a estruturação familiar em menores distâncias. Nas outras duas populações Campina Verde e Pau de Fruta, os indivíduos se encontram distribuídos espacialmente de maneira aleatória;
- Para o manejo de populações naturais de espécies arbóreas, deve-se considerar a constituição genética dos indivíduos, levantados a partir de estudos das populações de espécies de interesse para a exploração. Essa constituição é responsável por parte das diferenças de produtividade, adaptação e reprodução entre indivíduos de uma espécie;
- Recomenda-se para que o manejo seja considerado viável e adequado, um número efetivo de indivíduos na população deve respeitar a PMV que para a espécie foi de 600 indivíduos para conservação a curto prazo e 6000 indivíduos para a conservação a longo prazo e, o tamanho efetivo das populações em questão e a sua distribuição espacial na área;
- Recomenda-se que seja implementado no Inventário Florestal de Minas Gerais, realizado pela UFLA, o levantamento de índices de diversidade genética das populações naturais arbóreas, visando primeiramente o conhecimento da real situação da biodiversidade destas e aplicação destes para as posteriores propostas de manejo, pelo menos para as espécies mais exploradas;
- Como há uma forte dependência entre a produção familiar e o uso dos recursos naturais, ainda pouco conhecidos, no Norte de MG. A adoção de critérios para viabilizar o manejo da espécie favorecerá tanto a conservação do Cerrado em MG como o desenvolvimento local dos moradores e coletores de *D. mollis*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; BRUNE, W.; OLIVEIRA, J. R.; ALONSO, S. K.; SCORTICHINI, M. Extração de proteínas para eletroforese. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, UFV, 1998. p. 85 - 114.

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG, UFV, 1991. 242 p.

ALHO, C.J.R.; MARTINS, E.S. De grão em grão o Cerrado perde espaço. Brasília: WWF/PRÓ-CERRADO, 1995. 66P.

ALMEIDA Jr., J.M.G. Uma proposta de ecologia humana para o Cerrado. In: PINTO, M. N. (org.) **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. 2.ed.rev.atua. Brasília:UNB, 1993. p.569-583.

ALMEIDA LIMA, C.S. **Desenvolvimento de um modelo para manejo sustentado do Cerrado**. Lavras: UFLA, 1997. 159 p. (Mestrado - Engenharia Florestal).

ALTIERI, M.A. **Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa**. Tradução Patrícia Vaz. Rio de Janeiro: PTA/FASE, 1989. 240 p.

ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARAY, A. A.. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species. **Evolution**, v.48, n.2, p.437-453, 1994.

ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; FIGUEIRA, A. Mating system in natural population of *Theobroma grandiflorum* (willd ex Spreng) shum genetics and molecular, **Biology**, v.79, n.2, p.20-31, 2003.

AYALA, F. J.; KIGER, J. A. **Modern genetics**. Menlo Park: The Benjamin Cummings Co., 789 p., 1984.

BACLES, C. F. E.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, p. 573-584, 2004.

BARREIRA, S.; SCOLFORO, J.R.S.; BOTELHO, S.A.; MELLO, J.M. Estudo da estrutura da regeneração natural e da vegetação adulta de um cerrado sensu stricto para fins de manejo florestal. Piracicaba. **SCIENTIA FORESTALIS**, n. 61, p. 64-78, jun. 2002

- BARRETT, S. C. H.; KOHM, R. Genetic and evolutionary consequences of small population size. In: FALK, D.A. ; KOLSINGER, K. E. **Genetics and Conservation of Rare Plants**. New York: Oxford University, 1991. p. 3-30.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998. 666 p.
- BAWA, K. S.; KRUGMAN, S. L. Reproductive biology and genetics of tropical trees in relation to conservation and management. In: GOMES-POMPA, A.; WHITMORE, T. C.; HADLEY, M. (Eds.). **Rain forest regeneration and management**. Paris, UNESCO, 1990. p. 119-136.
- BAWA, K. S.; KRUGMAN, S. L. Reproductive biology and genetics of tropical trees in relation to conservation and management. In: GOMES-POMPA, A.;
- BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Quantification of diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, v. 27, p. 415-424, 1997.
- BOECKLEN, W. J.; SIMBERLOFF, D. Area-based extinction models in conservation. In: ELLIOT, D. K. (ed.). **Dynamics of extinction**. [S.l]: J. Wiley e Sons, 1986. p.165-180.
- BROWN, A. H. D. Isozymes, plant populations genetics structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 52, p. 145-157, 1978.
- BROWN, A. H. D.; WEIR, B. S. Measuring genetic variability in plant population. In: TANSKLEY, S. D. & ORTON, T. J. (Eds.). **Isozymes in plants genetics and breeding**. Elsevier, Amsterdã. 1983.
- BRUNE, W.; ALFENAS, A. C.; JUNGHANS, T. G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa, UFV, 1998. p. 201 - 328.
- CARDOSO, M. A.; PROVAN, J.; POWELL, W.; FERREIRA, P. C. G.; OLIVEIRA, D. E. High genetic differentiation among remnant populations of the endangered *Caesalpinea echinata* Lam. (Leguminosae – Caesalpinioideae). *Molecular Ecology*, v. 7, p. 601-608, 1998.
- CARLINI-GARCIA, L.A. **Uso do método de reamostragem bootstrap na estimação de parâmetros genéticos populacionais**. Piracicaba, ESALQ, 162 p., 2001. (Tese Doutorado).
- CARVALHO, D.; TORRES, G. A. **Marcadores moleculares**. Lavras, UFLA/FAEPE, 2002.

CAVALLI, S. S.; WINGE, H. Variabilidade genética em populações naturais. In: FREITAS, L. B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre, RS. Editora UFRGS, 2003. p. 165 – 175.

CHAVES, M. M. F. **Descrição morfológica de sementes, de plântulas e de mudas de 10 espécies arbóreas pioneiras na microrregião de Viçosa, MG**. 1994. 108 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CHELIAK, W. M.; PITEL, J. A. Inheritance and linkage allozymes in *Larix laricina*. **Silva e Genetica**, Frankfurt, v.34, p. 142-148, 1989.

CINTRA, P.; MALASPINA, O.; PETACI, F.; FERNANDES, J.B.; BUENO, O.C.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. **Toxicity of *Dimorphandra mollis* to Workers of *Apis mellifera***. **J. Braz. Chemistry Soc.** v. 13. n.1. p. 115-118, 2002.

CLEGG, M. T. Measuring plant mating systems. **Bioscience**, v. 30, n. 12, p. 814-18, 1980.

CLIFF, A. D.; ORD, J. K. **Spatial processes methods and applications**. London: Pion, 1981, 389 p.

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

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

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

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da agricultura, 1931. v. 1, p. 432-433.

COSTA, C.M.R., HERRMANN, G., MARTINS, C. S., LINS, L.V. & LAMAS, I.R. (org.). **Biodiversidade em Minas Gerais: um Atlas para sua conservação**. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, MG. 1998.

CRAWFORD, T.J. Enzyme electrophoresis: basic methods and interpretation of banding patterns. **Plant molecular systematics**. New York: J. Wiley e Sons, 1990. p. 65-79.

CRAWFORD, T.J. Phylogenetic and systematic interferences from electrophoretic studies. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. (eds.). **Isozymes in plant genetics and breeding**: part A. Amsterdam: Elsevier Science, 1983. p. 257-287.

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. An introduction to population genetics theory. 1970, 591 p.

CUNNINGHAM, A.B. **Applied ethnobotany: people, wild plant use e conservation**. Earthscan, London: WWF, UNESCO; Royal Botanic Gardens Ken, 2001. 300 p. (People and plants conservation)

DEGEN, B.; PETIT, R.; KREMER, A. SGS - Spatial Genetic Software: a computer program for analysis of spatial genetic and phenotypic structures of individuals and populations. **Journal of Heredity**, v.92, p. 447-448, 2001.

DIAS, L.A. dos S.; KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em espécies arbóreas e consequências para o melhoramento florestal. **Agrotrópica**, v.3, n.3,

DICK, C. W.; ETCHELECU, G. , AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 753-764, Mar. 2003.

DUTECH, C.; SORK, V. L.; IRWIN, A. J.; SMOUSE, P. E.; DAVIS, F. W. Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 2, p. 252-261, Feb. 2005.

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

ELLSTRAND, N.; ELAM, E. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.24, p. 217-241, 1993.

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

EPPERSON, B. K.; ALLARD, R. W. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine. **Genetics**, v. 121, p. 369-377, 1989.

- EPPERSON, B. K.; CHUNG, M. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Pinus strobes* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, v.88, n.6, p. 1006-1010.
- ESTOPA, R. A. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish)**. Lavras: UFLA, 46 p., 2003. (Monografia – Graduação em Engenharia Florestal).
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introdução à genética quantitativa**. Londres: Longman, 1996, 464 p.
- FELDMAN, F. Prefácio. In: **Cerrado: bases para a conservação e uso sustentável das áreas de Cerrado do estado de São Paulo**: Secretaria do Estado de Meio Ambiente, 1997.113 p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 220 p., 1998.
- FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M. M. **Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandramollis* Benth. - faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae)** *Revta brasil. Bot.*, São Paulo, v.24, n.3, p.303-309. 2001.
- FISHER, R. A. Average excess and average effect of a gene substitution. **Annals of Eugenics**, v. 11, p. 53-63, 1941.
- FONSECA, G.A. **The vanishing Brazilian forest**. In: *Biological Conservation*, 53, p 17-34. 1995.
- FONSECA, G.A. **The Designing Sustainable Landscapes**. Washington: Conservation International. 32 p. 2000.
- FONSECA, G.A.; PINTO, L.P.; RILAND, A.B. **Biodiversidade e unidades de conservação**. In: *Anais Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação*, Curitiba. v.1. p.69-109. 1997.
- FORÉ, S. A.; HICKEY, R. J.; VANKAT, J. L.; GUTTMAN, S. J.; SCHAEFER, R. L. Genetic structure after forest fragmentation: an landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, n. 8, p. 1659-1668, Aug. 1992.

FRANCESCHINELLI, E. V.; BAWA, K. S. The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). **Heredity**, v.84, p. 116-123, 2000.

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

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

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

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

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

GOMES, L.J. **Extratativismo e comercialização da fava d'anta (*Dimorphandra* sp.) estudo de caso na região de cerrado de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 158 p., 1998. (Dissertação de Mestrado).

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

GONZÁLEZ-ASTORGA, J.; NÚÑES-FARFÁN, J. Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic *Brongniartia vazquezii*. **Evolution Ecology Research**, Tucson, v. 3, n. 7, p. 961-872, Nov. 2001.

GRAUDAL, L.; KJAER, E.; THOMSEN, A.; LARSEN, A. B. Planning national programmes for conservation of forest genetic resources. **Technical note Danida**, n. 48, p. 1-58, 1997.

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, SP.

- GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Eschweilera ovata*. **Scientia Forestalis**, n.67, p. 123-135, 2005.
- 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**, v.10, p.757-768, 1996.
- HAMRICK, J. L.; NASON, J. D. Gene flow in forest trees. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p. 81 – 90.
- HAMRICK, J. L. Gene flow and distribution of genetic variation in planta population. In: URBANSKA, K (Ed.). **Differentiation patterns in higher plants**. New York: Academic Press. 1987. p. 53-76
- HAMRICK, J. L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.H.; MacBYDE, B.; THOMAS, L. **Genetics and conservation**. Menlo Park: Califórnia: Benjamin Cummings Publishing Company, 1983. p. 335-348.
- HAMRICK, J. L.; GODT, M. T. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A. H. D. et. al. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 1989, p. 43-63.
- HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. The genetic structure of tropical tree populations: associations with reproductive biology. In: BOCK, J. H.; LINHART, Y. B. (eds.). **The evolutionary ecology of plants**. Westview Press, Boulder, p. 129-146, 1989.
- HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, v.7, p. 395-399, 1991.
- HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A.; NASON, J. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**, n. 107, p. 281-297, 1993.
- 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, 2002. Disponível em: <<http://www.ulb.ac.be/sciences/lagev/software.html>>. Acesso em: 24 mar. 2005.
- HARTL, D. L. CLARK, A. G. Principles of population genetics. **Sinauer Associates, Sunderland, MA**, 1997.

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

HEYWOOD, V. G.; MACE, G. M.; MAY, R. M.; STUART, S. N. Uncertain extinction rates. **Nature**, v.368, p. 105, 1994.

HUANG, Q. Q. et al. Genetic control of isozyme variation in Masson Pine, *Pinus massoniana* Lamb. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.43, p. 285-292, 1994.

HUFF, D. R.; PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchoë dactuloides* (Nutt.) Elgen). **Theoretical and Applied Genetics**, v.86, p. 927 – 934, 1993.

HUGHES, J. B.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R. Population diversity: its extent and extinction. **Science**, v.278, p.689-692, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA-IBGE. Mapa de vegetação do Brasil. Rio de Janeiro, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA **Classificação da Vegetação Brasileira**. São Paulo: 1993. 89 p.

ISHII, K.; FURUTA, T.; KASUYA, Y. **Determination of rutin in human plasma by high-performance liquid chromatography utilizing solid-phase extraction and ultraviolet detection**. Elsevier. Journal of Chromatography Japan: n.759 p. 161–168. 2001.

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.

JENNINGS, S. B.; BROWN, N. D.; BOSHIER, D. H.; WHITMORE, T. C.; LOPES, J. do C. A. Ecology provides a pragmatic solution to the maintenance of genetic diversity in sustainably managed tropical rain forests. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 154, p. 1-10, 2001.

KAGEYAMA, P. Y. Conservação “in situ” de recursos genéticos de plantas. **Silvicultura**, São Paulo, v. 11, n. 41, p. 7 – 37, 1987.

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**, n.64, p. 108-119, 2003b.

- KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B.; SOUZA, L. M. I. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 32, p. 65-70, 1998.
- KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia forestalis**, n. 64, p. 93-107, 2003.
- KARRON, J. D. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. **Evolutionary Ecology**, v. 1, p.47-58, 1987.
- KELLER, L. F.; WALLER, D. M. Inbreeding effects in wild population. **Trends in Ecology & Evolution**, v.17, n.5, p. 230-241, 2002.
- KEPHART, S. R. Starch gel eletroforesis of plant isoenzymes: a comparative analysis of techniques. **American Journal of Botany**, Columbus, v.77, n.5, p.693-712, May 1990.
- 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**, v. 13, p. 657-669, 2004.
- KIMURA, M.; CROW, J. F. The measurement of the effective population number. **Evolution**, 17: 279-288, 1964.
- KING, L. M.; SCHAAL, B. A. Ribosomal-DNA variation and distribution in *Rudbeckia missouriensis*. **Evolution**, v. 43, p. 1117 – 1119 1989.
- 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.
- LACERDA, C. M. B.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial de duas populações naturais de *Myracrodruon urundeuva* M. Allemão na região semi-árida, Brasil. **Revista Árvore**, v. 27, n. 2, p. 145-150, 2003.
- LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; LEMOS FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 1143 – 1152, 2001.
- LANDE, R. Genetic and demography in biological conservation. **Science**, v. 241, p. 1455-1460, 1988.

- LEE, S. L. Mating system parameters in a tropical tree species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian Lowland dipterocarp forest. **Biotropica**, v.32 (4a), p. 693-702, 2000.
- LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, Washington, v. 74, n.6, p. 1659-1673, 1993.
- LEMES, M. R.; GRIBEL, R.; PROCTOR, J.; GRATTAPAGLIA, D. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 11, p. 2875-2883, Nov. 2003.
- LEWANDOWSKI, A. Inheritance and linkage of some allozymes in *Pinus armandii* Franch. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.49, p. 79-82, 2000.
- 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. 2000. Home Page at <http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>.
- LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary biology**, v. 6, p. 381-398, 1972.
- LEWONTIN, R. C. **The genetic basis of evolutionary change**. New York: Columbia University, 1974. 346p.
- 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**, n. 82, v.11, p. 1420-1425, 1995.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Distribucion de la variacion en especies de arboles tropicales. **Revista Biologia Tropicales**, v. 35, n. 1, p. 165-75, 1987.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 15, p. 65-95, 1984.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Distribucion de la variacion en especies de arboles tropicales. **Revista Biologia Tropicales**, v. 35, p. 165-175, 1987. (supl. 1).
- LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 255-273, Oct. 2005.

MAGSALAY, P. T.; DUTRSON, G.; TIMMIS, R. Extinction and conservation on Cebu. *Nature*, v.373, p.294, 1995.

MALTEZ, H. M. **Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. – Apocynaceae (peroba rosa) em uma floresta estacional semidecídua no Estado de São Paulo.** 1997. 132 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

MATIOLI, S. R. (Ed.). **Biologia molecular e evolução.** Ribeirão Preto: Holos

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*, n.66, p.56-65, 2004.

MELLO, A.A. **Estudo silvicultural e da viabilidade econômica do vegetação do Cerrado.** Lavras: UFLA, 1999. 187 p. (Dissertação - Mestrado em Ciências Florestais)

MENDONÇA, A.V.R. **Diagnóstico dos planos de manejo e o potencial de exploração da vegetação do Cerrado e da Mata Seca no estado de Minas Gerais.** Lavras: UFLA, 2000. 189 p. (Dissertação - Mestrado em Ciências Florestais)

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

MITTERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMANN, M., PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOUREX, J.; FONSECA, G. A. B. **Hotspots Revisited. Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions.** Washington: CEMEX/Agrupación Sierra Madre. 2005.

MITTON, J. B. The dynamic mating systems of conifers. In: Population genetics of forest trees. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POPULATION GENETICS OF FOREST TREES. ADAMS, W. T.; STRAUSS, S. H.; COPES, D. L.; GRIFFIN, A. R. (Eds.). Dordrecht, 1992. **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**, v.16, p. 23, 2003.

- MORAES, P. L. R.. Estrutura genética de população de *Cryptocarya moschata* Nees e Martius Ex Nees (Lauráceas).1997. p.190. Tese (Doutorado em Ciências Biológica/ Biologia Vegetal).Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.
- MORAES, P. L. R.; MONTEIRO, R.; VENCOVSKY, R. Estrutura genética intrapopulacional em *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 475-487, 2004.
- MORDEN, C. W.; LOEFFLER, W. Fragmentation and genetic differentiation among subpopulations of the endangered Hawaiian mint *Haplostachys haplostachya* (Lamiaceae). **Molecular Ecology**, v.8, p. 617-625, 1999.
- MURAWSKI, D. A.; BAWA, K. S. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. **American Journal of Botany**, v. 81, n. 2, p. 155-160, 1994.
- MURAWSKI, D. A.; GUNATILLEKE, I. A. U. N.; BAWA, K. S. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 8, n. 4, p. 997-1002, Dec. 1994.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions.**Biotropica**,v. 24, n.1, p.99-101. 1992.
- MURCIA C. Edge effects in fragmented forests: implication for preservation. **Tree**, Victoria, v. 10, n. 1, p. 58-62, 1995.
- MURCIA, C. Edge effects in fragment forests: implications for conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 10, n.2, p. 58 – 62, 1995.
- MURCIA, C. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. p. 19-36 In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. 1996. Washington: Island Press.
- MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand.-Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, v. 89, p.273-279, 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**, v.87, p. 583 – 590, 1978.

- NEI, M. *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of Human Genetics**, v.41, p. 225-233, 1977.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York, Columbia University Press. 1987. 512 p.
- NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.74, p.5267 - 5273, 1979.
- NEI, M.; MURAYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 1975.
- NEIGEL, J. E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, v. 28, p. 105-128, 1997.
- NOGUEIRA, D. C. F. **Atividade antiulcerogênica do óleo essencial e da fração rica em alfa-bisabolol, obtidos das espécies do gênero *Eremanthus***. 2000. 83 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Campinas, Campinas, SP.
- NYBOM, H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 1143-1155, 2004.
- O'MALLEY, D. M.; BAWA, K. S. Mating system of a tropical rain forest tree species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 74, n. 8, p. 1143-1149. 1987.
- OLIVEIRA FILHO, A. T.; CARVALHO, D. A.; FONTES, M. A. L.; VAN DEN BERG, E.; CURI, N.; CARVALHO, W. A. C. Variações estruturais do componente arbóreo de uma floresta semidecídua alto-montana na Chapada das Perdizes, Carrancas, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n.2, p. 291-309, abril/junho 2004.
- OLIVEIRA, A. F. **Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas**. 2000. p.114. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- 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**, v.25, n.3, p. 331-338, 2002.

PALACIOS, C.; GONZÁLEZ-CANDELAS, F. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae). **Molecular Ecology**, v.6, p. 1107-1121, 1997.

PEDRALLI, G. Estrutura diamétrica, vertical e análise do crescimento da 'candeia' (*Vanillosmopsis erythropappa* Sch. Bip) na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto – MG. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 301-306, abr./jun. 1997.

PÉREZ, T.; ALBORNOZ, J.; DOMINGUES, A. An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. **Molecular Ecology**, v.7, p. 1347-1357, 1998.

PINTO, L. R.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P.; SOUZA JR., C. L. Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Biociência**, Uberlândia, v. 3, n. 20, p. 16-19, maio/jun. 2001.

PINTO, S. I. C.; CARVALHO, D. Estrutura genética de populações de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Sprengel) por isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n.3, p. 597-605, 2004.

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.

POWELL, J. R. Protein variation in natural populations of animals. **Evolutionary Biology**, v. 8, p. 79-119, 1975.

RATNAM, W.; BOYLE, T. J. Effects of logging and others forms of harvesting on genetic diversity in humid tropical forests. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p. 115-123.

REIS, M. S. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 4, p. 37-47, dez. 1996.

REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* MARTIUS)**. 1996. 210 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

- RENAU-MORATA, B.; NEBAUER, S. G.; SALES, E.; LLAINGUILLAUME, J.; CALIGARI, P.; SEGURA, J. Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica* (Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n.5, p. 875-884, 2005.
- RIBAS, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética em uma população de *Trema micrantha* (L.) B. Considerando diferentes estádios de vida. **Scientia Forestalis**, n.65, p. 176-187, 2004.
- RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*. **Revista do Instituto Florestal**, v.16, n.1, p.73-81, 2004.
- RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n.3, p. 418-424, 2004.
- RITLAND, K. A marker-based method for inferences about quantitative inheritance in natural populations. **Evolution**, n. 50, p. 1062-1073, 1996.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus Guttatus*. **Evolution**, v.43, n.4, p. 848-859, 1989.
- RITLAND, K. e EL-KASSABY, Y.A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. **Theor. Appl. Genet**, 71: 371-384, 1985.
- RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetics Research**, New York, v. 67, n. 2, p. 175-185, Apr. 1996.
- RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR. Version 1.1.** Canada: University of Toronto, 1997.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, v.47, p. 35-52, 1981.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira.** São Paulo: E. Edgard Blücher, 1981. 296 p.
- ROBINSON, I. P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.** Viçosa, MG: UFV, 1998. p. 329-380.
- ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system.** New York, 1992. Version 1.70.

ROUSSET, F. Inbreeding and relatedness coefficients: what do they measure? **Heredity**, v. 88, p. 371-380, 2002.

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

SANTOS, E. M. G. **Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae)**. Piracicaba: Departamento de genética/ ESALQ/USP, 1994. p. 114.(Dissertação-Mestrado em Agronomia).

SCHNEIDER, D. S.; ROESSLI, L.; EXCOFFIER, L. **Arlequin ver. 2000: a software for population genetics data analysis**. Geneva: Genetics and Biometry Laboratory / University of Geneva, 2000.

SCHNEIDER, M.P.C.; BATISTA, C.G.; CARVALHO, D.; CIAMPI, A.Y.; FRANCESCHINELLI, E.V.; GENTILE, R.; GONÇALVES, E.C.; GRATIVOL, A.D.; NASCIMENTO, M.T.; PÓVOA, J.R.; VASCONCELOS, G.M.P.; WADT, L.H.; WIEDERHECKER, H.C. Genética de Populações Naturais. In: **Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas**. Brasília: MMA/SBF. 2ª Edição, 510 p. 2005.

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 agronomia/genética e melhoramento de plantas) ESALQ- Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEBBENN, A. M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiáceas) a partir de isoenzimas**. 1997. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

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

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

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**, n.58, p. 25-40, 2000.

- 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. 2000.
- SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas em *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, v.16, n.1, p.57-63, 2004.
- SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, v.13, n.1, p.19-26, 2001.
- 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**, v. 13, p. 2645-2653, 2004.
- SHAPCOTT, A. The spatial genetics structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). **Heredity**, Oxford, v.74, n.1, p.28-38, Jan. 1995.
- SHAW, D.V.; BROWN, A.H.D. Optimum number of marker loci for estimating outcrossing in plant populations. **Theor Appl. Genetic.**, v.61, p.321-325, 1982.
- SILVA, A. C. da . **Variações genéticas em candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish): simbiose e desenvolvimento radicular e estabelecimento inicial em áreas degradadas**. 2003. 133 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SILVA, E. F. **Caracterização edifica e fitossociologia e, áreas de ocorrência natural de candeia (*Vanillosmopsis erythropappa* Sch. Bip)**. 2001. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- 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**, n. 66, p. 94-99, 2004.
- SLATKIN, M. Estimating level of gene flow in natural populations. **Genetics**, v.99, p. 323-335, 1981.
- SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 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, Dec. 1989.

- SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. Freeman, San Francisco, 1973.
- SOKAL, R. R.; MENOZZI, P. Spatial autocorrelation of HLA frequencies in Europe support demic diffusion of early farmers. **American Naturalist**, Chicago, v. 119, n. 1, p.1-17, 1982.
- SOKAL, R. R.; ODEN, N. L. Spatial autocorrelation in biology. I. Methodology. **Biology Journal Linnean Society**, London, v. 10, n. 2, p. 199-228, 1978.
- SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In :
- SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (Ed.). **Isoenzymes in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, 1989. p.5-45.
- SOULÉ, M. E. What do we really know about extinctions In: SCHOENWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; B. MACBRYDE, B.; L. (eds.). **Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations**. [S.l.]: Thomas. Benjamin-Cummings, 1983. p. 111-124.
- 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**. Piracicaba, 1997, p. 76. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.1, p. 113-121, 2003.
- SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. **Silva Genetica**, Frankfurt, v.23, p. 149-156, 1974.
- SUN, M. Effects of population size, mating system, and evolutionary origin on genetic diversity in *Spiranthes sinensis* and *S. hongkongensis*. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 785-795, June 1996.
- STOBIECKIA, M.; MATYSIAK-KATAB, M.; FRAN´SKIC, R.; SKA_AD, J.; SZOPAB, J. **Monitoring changes in anthocyanin and steroid alkaloid glycoside content in lines of transgenic potato plants using liquid chromatography/mass spectrometry**. Pergamon, Poland. v.6, n. 62, p. 959-969, 2003

- SUN, M.; RITLAND, K. Mating system of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*), a successful colonizer in North America. **Heredity**, v.80, p. 225-232, 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**, v.26, n.1, p. 123-129, 2003.
- TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L.J.; Diniz-Filho, J.A.F; Valva, F.D. **Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. (“cagaiteira” – Myrtaceae) in Central Brazil: Spatial analysis and implications for conservation and Management. Brasil, Conservation Genetics**, v.4, p. 685-695, 2003.
- TOREZAN, J. M. D.; SOUZA, R. F.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F.; CAMARGO, E. H.; VANZELA, A. L. L. Genetic variability of pre and post-fragmentation cohorts of *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 2, p. 171-180, 2005.
- TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: SBG, 1995, 186 p.
- VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**. Ribeirão Preto, v. 15, p. 53-60, 1992. Suplemento, 1.
- VENCOVSKY, R. Biometrical approaches for molecular markers estimation of effective population size. In: **INTERNATIONAL WORKSHOP ON AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY**, 1997, Piracicaba. **Proceedings...** Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p. 233-234.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. **IPEF**, v. 35, p.79-84, 1987.
- WALLACE, B. **O ambiente: como eu vejo, a ciência não é suficiente**. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 311p. 2002.
- WANG, C. T.; LIN, T. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme, and estimation of outcrossing rate in a seed orchard of *Cunninghamia konishii* Hay. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.47, p. 33-37, 1998.

- WARD, M.; DICK, C. W.; GRIBEL, R.; LEMES, M.; CARON, H. , LOWE, A. J. To self, or not to selfy... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 246-254, Oct. 2005.
- WEIR, B. S. **Genetic data analysis II**: methods for discrete population genetic data. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1996. 455p.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating *F*-statistics for the analyses of population structure. **Evolution**, v. 38: p. 1358-70. 1984.
- WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy Science of the United State of America**, Washington, v. 99, n. 4, p. 2038-2042, Feb. 2002.
- WHITMORE, T. C.; HADLEY, M. **Rain forest regeneration and management**. Paris: UNESCO, 1990. p. 119-136.
- WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, J. K.; RFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**. v. 18, p. 6531-6535, 1990.
- WORKMAN, P.; NISWANDER, J. L. Population studies on southwestern Indian Tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal Human Genetic**, v.22, p. 24-49, 1970.
- WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, Baltimore, v. 16, p. 97-159, 1931.
- WRIGHT, S. Systems of mating. **Genetics**, v. 6, p.111-178, 1921.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugen.**, v. 15, p. 395-420. 1951.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, New York, v. 15, n. 4, p. 323-354, 1951.
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by *F*-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, Washington, v. 19, n. 3, p. 395-420, 1965.
- YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluation of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Thearaceae) in Korea based on allozyme studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Shanghai, v. 37, p. 141 – 146, 1996.

YEH, F. C.; CHONG, D. K. X.; YANG, R. C. RAPD variation within and among natural populations of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. **Journal of Heredity**, v.86, p. 454-460, 1995.

YOUNG, A. G.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. 352 p.

YOUNG, A. G.; BOYLE, T. J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p. 123 – 135.

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. 4, p. 277-289, 1993.

YONG, M.D.; SOLBRIG, O.T. **Economic and ecological forces affecting tropical savannas**. In: The Medicinal Plant Industry. World's savannas economic arriving forces, ecological constraints and policy options for sustainable land use. Paris: UNESCO, 1993. 350 p.

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

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

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 130p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

