**VARIABILIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS E CARACTERES
QUANTITATIVOS EM DUAS POPULAÇÕES NATURAIS DE AROEIRA**
Myracrodruon urundeuva F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae
(Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler)

MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. PAULO YOSHIO KAGEYAMA

Tese apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz",
da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1992

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

M827v Moraes, Mario Luiz Teixeira de
Variabilidade genética por isoenzimas e
caracteres quantitativos em duas populações
naturais de aroeira *Myracrodruon urundeuva*
F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae (Syn: *Astronium*
urundeuva (Fr. Allemão) Engler)
Piracicaba, 1992.
139p.

Tese - ESALQ
Bibliografia

1. Aroeira - Conservação genética 2. Aroeira -
Variação genética 3. Eletroforese 4. Endogamia em
aroeira I. Escola Superior de Agricultura Luiz de
Queiroz

CDD 634.97328

**VARIABILIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS E CARACTERES
QUANTITATIVOS EM DUAS POPULAÇÕES NATURAIS DE AROEIRA**
Myracrodruon urundeuva F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae
(Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler)

MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Aprovado em 25.02.93

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama

RSALQ/USP

Prof. Dr. Roland Vencovsky

RSALQ/USP

Prof. Dr. José Branco de Miranda Filho

RSALQ/USP

Profa. Dra. Eucléia Primo Betioli Contel

FMRP/USP

Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá

FEIS/UNESP

Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama

Orientador

Aos meus pais,

Mario e Lourdes,

pelo exemplo,

DEDICO.

à minha esposa Selma,

às filhas Marcela e Mayara e

à sogra Diolinda,

OFEREÇO.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. Dr. PAULO YOSHIO KAGEYAMA pela orientação, confiança e amizade;

À professora Dra. EUCLÉIA PRIMO BETIOLI CONTEL e aos professores Dr. JOSÉ BRANCO DE MIRANDA FILHO, Dr. MARCO EUSTÁQUIO DE SÁ e Dr. ROLAND VENCovsky pelas críticas e sugestões que só enriqueceram este trabalho;

Aos docentes e funcionários dos Departamentos de Genética e Ciências Florestais da ESALQ/USP pelos ensinamentos recebidos e amizade;

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP pela oportunidade de aperfeiçoamento;

À CAPES-PICD pela bolsa de estudos concedida;

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento de parte da tese;

As laboratoristas do Laboratório de Biologia Reprodutiva e Genética de Espécies Arbóreas do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP, em especial à ELZA MARTINS FERRAZ pela sua colaboração nas análises eletroforéticas;

Ao Dr. JOÃO RODRIGUES DE PAIVA e ao Prof. JOÃO ANTONIO DA COSTA ANDRADE pela revisão do texto e sugestões na apresentação da simbologia estatística;

Ao Eng^o. Ftal. AGMAR PAULO VITTI pelo apoio na área de informática;

Aos funcionários da FEIS/UNESP: JOSÉ CAMBUIM, AILTON DOS REIS, MARIO SEKI, GILMAR R. GUIMARÃES, VICENTE G. DE ALMEIDA e VALDECIR A. DE SOUZA pelo apoio na coleta de sementes de aroeira da população de Selvíria-MS, condução dos testes de progênies e análise dos macronutrientes;

À Dra. ANA CRISTINA M. F. SIQUEIRA pelo apoio na coleta de sementes de aroeira da população de Bauru-SP e pelas suas informações pessoais sobre esta espécie;

Ao Eng^c. Ftal. NELSON K. KANO e ao Técnico HELENO R. DE SOUZA pelo apoio na formação das mudas dos testes de progênies de aroeira e informações pessoais;

À Dra. MARIA DE LOURDES T. M. POLIZELI, Dr. FLORISVALDO POLIZELI e ao Dr. SALATIER BUZZETTI pelos auxílios prestados na revisão do texto;

À Eng^a. Ftal. MARCY G. F. TORGGLER, e ao Dr. MARCIO DE MIRANDA SANTOS e à Técnica ELISABETE M. S. B. BEIRA, da FMRP/USP, pelas sugestões e apoio nas análises eletroforéticas;

Aos colegas do curso pela amizade, troca de informações e sugestões, em especial ao FRANCISCO TERASAWA JÚNIOR, LUIZ ANTONIO DOS SANTOS DIAS e EDSON SEIZO MORI;

Aos funcionários da biblioteca do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), em especial a MARIALICE METZEKER POGGIANI pelo apoio concedido;

Ao Prof. JOÃO ROBERTO COELHO AIRES DA GAMA BASTOS que me substituiu, na FEIS/UNESP, durante o meu afastamento para realização do curso (*in memoriam*);

À minha esposa SELMA MARIA B. DE MORAES pela
revisão no arquivos de dados e incentivo constante;

À MARIA BORTOLI BOTTENE (D^{ca} Mariquinha) pelo
apoio constante extra tese;

Enfim a todos que contribuíram direta ou
indiretamente, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
SUMMARY	xii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Considerações gerais sobre a espécie <i>Myracrodruon urundeuva</i> F.F. & M.F. Allemão ..	03
2.2. Estrutura genética de populações naturais ...	05
2.3. O problema da medição da variação genética ..	10
2.3.1. A técnica da eletroforese	10
2.3.2. O uso das técnicas quantitativas	15
2.4. Variação de isoenzimas em espécies arbóreas .	18
2.4.1. Espécies arbóreas de floresta temperada	18
2.4.2. Espécies arbóreas de floresta tropical	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. Material	29
3.2. Métodos	30
3.2.1. Instalação dos testes de progenes e estimativa dos parâmetros genéticos ..	30
3.2.2. Análises eletroforéticas	34
3.2.2.1. Análise estatístico-genética	39
3.2.2.2. Medição da variabilidade genética	42

3.2.3. Determinação da variação genética entre e dentro de populações, através da análise dos caracteres quantitativos e das isoenzimas	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1. Desenvolvimento do protocolo de alguns sistemas enzimáticos para <i>M. urundeuva</i>	47
4.2. Resultados e parâmetros genéticos obtidos das análises eletroforéticas	54
4.2.1. Análises de variâncias individuais e conjuntas para cada alelo	57
4.2.2. Análise da variabilidade genética a partir das frequências gênicas dos alelos e locos identificados por eletroforese	61
4.2.3. Comparação entre os resultados obtidos nas análises eletroforéticas	71
4.3. Resultados obtidos por análises quantitativas	78
4.3.1. Análises individuais dos testes de progênies	78
4.3.2. Análise conjunta dos testes de progênies e comparação com o estudo das isoenzimas	87
5. CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICE	115

VARIABILIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS E CARACTERES
QUANTITATIVOS EM DUAS POPULAÇÕES NATURAIS DE AROEIRA
Myracrodruon urundeuva F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae
(Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler)

Autor: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Orientador: Prof. Dr. PAULO YOSHIO KAGEYAMA

RESUMO

A variação genética entre e dentro de duas populações de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae), uma de Bauru-SP e outra de Selvíria-MS, foram avaliadas através de caracteres quantitativos e pela técnica da eletroforese. Os caracteres quantitativos avaliados foram: altura de plantas (m); altura da primeira bifurcação (m); diâmetro a 30 cm do solo (cm); espessura da casca a 30 cm (cm); densidade da casca a 30 cm (g/cm^3); densidade básica da madeira a 30 cm (g/cm^3), diâmetro médio da copa (m); peso da matéria seca da copa (kg); e porcentagens dos macronutrientes nas folhas: N (%), P (%), K (%), Ca (%), Mg (%) e S (%). Estas características foram avaliadas aos 3,5 anos, em dois testes de progênies, constituídos por 28 famílias e 3 repetições em cada teste, instalados em dezembro de 1987 em Selvíria-MS. As médias das herdabilidades, no sentido restrito, das 14 características

foram iguais a 0,15 e 0,10, para as populações de Bauru-SP e Selvíria-MS, respectivamente. A análise conjunta envolvendo as duas populações, para os 14 caracteres analisados, não mostrou variação genética significativa entre as populações, ou seja, toda a variação está contida dentro das populações.

As análises eletroforéticas foram feitas em gel de amido, com extratos frescos de folhas cotiledonares obtidos a partir de 25 famílias, para a população de Bauru-SP, e de 26 para a de Selvíria-MS, sendo que dentro de cada família foram analisados 20 indivíduos. Os locos estudados foram: IDH (2 alelos), AAT-1 (3 alelos) e LAP-2 (4 alelos). A partir da frequência gênica obtida para cada alelo, dentro dos locos citados, foram estimados os parâmetros de variabilidade genética entre e dentro de populações. A diversidade genética total, para as duas populações de aroeira ($\hat{H}_T = 0,452$) foi superior à média de outras espécies arbóreas tropicais. Porém, estas duas populações apresentaram altos coeficientes de endogamia, tanto a nível de espécie ($\hat{F}_{IT} = 0,517$ e $\hat{F} = 0,520$), como a nível de população ($\hat{F}_{IS} = 0,499$ e $\hat{f} = 0,495$). A divergência genética entre populações foi baixa, conforme evidenciam as estimativas dos parâmetros: $\hat{F}_{ST} = 0,035$, $\hat{\theta}_2 = 0,049$, $\hat{G}_{ST} = 0,036$ e $\hat{D} = 0,028$. Estes resultados dão indicações que há predominância de cruzamento entre indivíduos aparentados, nas duas populações estudadas.

A quantificação da variação genética obtida pelos testes de progênies e pelas isoenzimas evidenciou, em

ambos os casos, que a maior parte da variação genética está dentro das populações (100% e 96,30%, respectivamente) e a menor entre populações (0% e 3,70%, respectivamente). A utilização destas duas metodologias básicas, método quantitativo e eletroforese, mostraram-se coerentes e complementares para o estudo genético de populações naturais de aroeira.

VARIABILITY GENETICS BY ISOZYMES AND QUANTITATIVE TRAITS
IN TWO NATURAL POPULATIONS OF "AROEIRA" - *Myracrodruon*
urundeava F.F. & M.F. Allemão - (Syn: *Astronium urundeava*
(Fr. Allemão) Engler)

Author: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Adviser: PROF. DR. PAULO YOSHIO KAGEYAMA

SUMMARY

The genetic variation between and within two "aroeira" (*Myracrodruon urundeava* F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae) populations, one from Bauru-SP and another from Selvíria-MS, was assessed through quantitative traits and by the electrophoresis technique. The quantitative traits assessed were: plant height (m); height of first bifurcation (m); diameter at 30 cm from the soil (cm); bark thickness at 30 cm; bark thickness density at 30 cm (g/cm^3); wood density at 30 cm (g/cm^3); average crown diameter (m); weight of crown dry matter (kg); and percentages of macronutrients in leaves: N (%), P (%), K (%), Ca (%), Mg (%), and S (%). Those traits were evaluated at the age of 3.5 years, in two open pollinated progeny tests established in Selvíria-MS, in December, 1987, with 28 families and 3 replications in each test. The average coefficient of heritability (narrow sense), of 14 traits were 0.15 and 0.10

for Bauru-SP and Selvíria-MS populations, respectively. The joint analysis involving the two populations, for the 14 traits analysed, showed no significant differences between populations; therefore, the total variance is included within populations.

The electrophoretic analyses were conducted in starch gel with fresh cotyledonal leaf extract obtained from 25 families for the Bauru-SP population and from 26 families for the Selvíria-MS population, where 20 individuals within each family were analysed. The loci studied were: IDH (2 alleles), AAT-1 (3 alleles) and LAP-2 (4 alleles). The total genetic diversity parameters between and within populations were estimated from the frequency obtained for each allele, within the loci cited. The total genetic diversity for the two "aroeira" populations ($\hat{H}_T = 0.452$) was higher than the average for other tropical tree species. However, these two populations presented high inbreeding coefficients at the species level ($\hat{F}_{IT} = 0.517$ and $\hat{F} = 0.520$) as well as at the population level ($\hat{F}_{IS} = 0.499$ and $\hat{f} = 0.495$). The genetic divergence between populations was low, as shown by the estimated parameters: $\hat{F}_{ST} = 0.035$, $\hat{\theta}_2 = 0.049$, $\hat{G}_{ST} = 0.036$, $\hat{D} = 0.028$. Such results indicated that there is outcross predominance between related individuals, in both populations studied.

The quantification of the genetic variation obtained by the progeny trials and by the isozymes showed, in both cases, that most of the genetic variation is within

populations (100% and 96.30%, respectively) and the least is between populations (0% and 3.70%, respectively).

The utilization of the two basic methodologies - quantitative and electrophoretic methods - were shown to be consistent and complementary for the genetic study of natural "aroeira" populations.

1. INTRODUÇÃO

A exploração em grande escala dos recursos madeireiros, especialmente no Estado de São Paulo, vem acarretando a erosão genética de espécies florestais de reconhecido valor econômico. Estas essências, na maioria das vezes, têm a sua estrutura genética desconhecida e, por apresentarem um crescimento lento, têm o seu reflorestamento desestimulado. O que se verifica, na realidade, é uma extração pura e simples dessas espécies, contribuindo, assim, para o seu total desaparecimento.

Embora a aroeira seja uma espécie de reconhecido valor econômico e de ocorrência ampla no Brasil, suas populações vêm sendo eliminadas pela exploração do homem, o que requer estudos que garantam a sobrevivência desta espécie. Portanto, existe a necessidade do conhecimento da estrutura genética das populações naturais ainda existentes, para que se possa propor estratégias de conservação.

Para se entender a estrutura genética das populações naturais de aroeira têm-se vários caminhos: um deles é pelos métodos da genética quantitativa, onde são estimados parâmetros genéticos, para alguns caracteres

silviculturais; um outro é pela caracterização isoenzimática das populações, utilizando-se da variação genética de alguns locos. No primeiro método os caracteres são fáceis de serem avaliados, porém, existem dificuldades quanto a demora na obtenção dos resultados e a ocupação de extensas áreas. Quanto ao segundo método, os resultados podem ser obtidos rapidamente, além do fato de permitir a análise de um grande número de indivíduos e/ou populações, muito embora não se consiga trabalhar com muitos sistemas enzimáticos, além do fato de não se saber quais os caracteres quantitativos que estes locos possam estar associados.

Estudos que envolvam métodos quantitativos e isoenzimáticos podem, portanto, se complementar e desta forma fornecer mais subsídios, para que se compreenda melhor como a variação genética se distribui entre e dentro de populações. Deste modo, com a execução desse trabalho pretendeu-se alcançar os seguintes objetivos:

- a. desenvolver o protocolo de sistemas enzimáticos, pela técnica da eletroforese, e quantificar a variabilidade genética pelo estudo das isoenzimas em duas populações naturais de aroeira;
- b. quantificar a variabilidade genética para um conjunto de caracteres quantitativos, em duas populações naturais de aroeira;
- c. comparar a divergência genética entre as populações de aroeira estudadas pela técnica da eletroforese e por caracteres quantitativos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais sobre a espécie *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão

SANTIN (1989), em uma reavaliação dos gêneros *Astronium* e *Myracrodruon*, classifica a aroeira como *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão, sendo a mesma uma árvore da família Anacardiaceae, com a particularidade de ser uma espécie dióica. NOGUEIRA et alii (1982) citam que a aroeira também é conhecida por oriundeúva, urundeúva, orindiúva, arendeúva, aroeira-legítima, aroeira-preta, aroeira-vermelha, aderno e ubatam . Ocorre naturalmente desde o Ceará até a Argentina e Paraguai, indo das formações mais secas e abertas até as muito úmidas e fechadas: caatinga, cerrado e floresta pluvial. Árvore longeva, sendo de grande porte nas florestas tropicais, onde pode alcançar cerca de 30 metros de altura e 1 metro em diâmetro. Porém, no cerrado e na caatinga atinge 15 metros em altura e de 15 a 30 centímetros em diâmetro (RIZZINI, 1971).

Nas formações florestais, em que ocorre, a aroeira aparece associada com *Piptadenia* spp, *Choriza*

speciosa, *Tabebuia impetiginosa* e *Hymenaea stilbocarpa*, sendo que, nas florestas secundárias, ela pode ocorrer em "stands" quase puros, com plantas de diferentes idades (FAO, 1986). KAGGIYMA et alii (1990) classificam a aroeira como secundária tardia e verificaram que a mesma tem um melhor desenvolvimento quando plantada em consórcio com uma espécie do tipo secundária inicial (por exemplo: *Piptadenia macrocarpa*).

A madeira da aroeira é rosa-clara quando recém cortada, tornando-se vermelho-escura quando exposta ao sol. É a mais durável de nossas madeiras, muito usada para postes, esteios, moirões, dormentes, etc. O cerne é muito rico em tanino, produto muito procurado pelas indústrias de curtume. A lenha é de boa qualidade, mas a madeira tem dificuldades ao queimar, sendo que o fogo em pastagens raramente mata as árvores existentes (NOGUEIRA, 1977).

A resistência, dureza e durabilidade da aroeira vem de sua alta densidade ($1,19 \text{ g/cm}^3$), excelente performance mecânica e boa defesa química, física e biológica. Estas propriedades garantem a sua qualidade para o uso como madeira nas propriedades rurais, sendo que a aroeira também pode ser usada como planta medicinal, por ser rica em tanino, que tem propriedades adstringentes, o que favorece a cicatrização de feridas (RIBEIRO, 1989).

Em relação ao seu ritmo de crescimento, em ensaios conduzidos por LIMA et alii (1982) em Petrolina-PE, a espécie apresentou uma média de 1,70 m de altura e

sobrevivência acima de 75%, aos três anos de idade. Em Assis-SP, aos nove anos de idade, apresentou altura média de 9,60 m e um DAP de 9,70 cm (GARRIDO, 1981). Já em São José do Rio Preto-SP, a média de altura foi de 5,11 m, aos quatro anos de idade (FAO, 1986). NOGUEIRA (1977), em plantios heterogêneos, encontrou, na região de Cosmópolis-SP, valores médios de 20 cm e 12,40 m, para DAP e altura, respectivamente, aos 20 anos de idade. Em ensaios de progênies e procedências, realizados por NOGUEIRA et alii (1982), em vários locais do Estado de São Paulo, foram obtidos valores médios de 0,99 m para altura, aos 12 meses, e coeficientes de variação que oscilaram entre 14,20 e 21,23%. Todos estes ensaios foram conduzidos com aroeira a pleno sol.

2.2. Estrutura genética de populações naturais

A estrutura genética de uma espécie pode ser considerada como o padrão de variação genética entre e dentro de populações, sendo que este padrão é determinado por fatores complexos, tendo o fluxo de genes, através da dispersão de pólen e sementes, grande importância nessa determinação (KAGEYAMA & PATINO-VALERA, 1985). Dados da literatura, citados por BUCKLEY et alii (1988) e O'MALLEY et alii (1988) para castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), PAIVA (1992) para seringueira (*Hevea brasiliensis*) e de HAMRICK (1989) para várias espécies arbóreas tropicais e

temperadas, vêm demonstrando que a variação genética dentro de populações é maior do que entre populações, para as espécies de cruzamento.

Em termos genéticos e demográficos, a estrutura populacional de uma espécie é resultante da ação e das interações de uma série de mecanismos evolutivos e ecológicos, sendo os principais componentes estruturais de uma população o sistema reprodutivo, o fluxo de genes, a variação cariotípica, a variação genética, o padrão de distribuição geográfica, a dispersão local, os componentes da história vital, a heterogeneidade ambiental e a plasticidade fenotípica (MARTINS, 1987). Estes componentes se interrelacionam em diferentes graus e levam as populações a várias estratégias de adaptação.

Conforme coloca HAMRICK (1983), o estudo da variação genética em populações naturais geralmente envolve duas questões básicas. A primeira se preocupa em descrever os níveis de variação genética mantidos dentro de populações ou espécies. Para abordar esta questão, os geneticistas de populações têm se utilizado de técnicas bioquímicas, como a eletroforese, para obter estimativas da variação genética em populações de plantas e animais. Estas estimativas são geralmente quantificadas em termos de número de locos polimórficos por população, pelo número efetivo de alelos por locos, ou a média do número de locos heterozigotos por indivíduo. Dados da literatura têm mostrado que a variação genética de alozimas difere entre grupos taxonômicos e entre

espécies dentro de grupos taxonômicos. Por outro lado, a variação dentro de populações está associada com a história vital da espécie, por exemplo: amplitude geográfica, sistema de cruzamento e tempo de vida fértil. Uma segunda questão é colocada por HAMRICK (1983) como sendo de particular importância à conservação dos recursos genéticos, pois ela está preocupada com o modo com que as variações genéticas são divididas dentro e entre populações. Isto implica em que, para que os recursos genéticos sejam manejados, é importante que se entenda como a variância genética é distribuída e quais as características do ambiente ou da espécie que influenciam esta distribuição.

Dentre as características que podem influenciar na distribuição da variância genética é citado por HAMRICK (1983): o tamanho efetivo da população, a distribuição geográfica das espécies, o modo de reprodução principal, o sistema de cruzamento, o mecanismo de dispersão de sementes e o tipo de comunidade em que a espécie habitualmente ocorre. Quatro destes fatores (tamanho da população, modo de reprodução, sistema de cruzamento e dispersão de sementes e pólen) influenciam diretamente o tamanho efetivo da população. Portanto, para espécies com pequenas populações, reprodução vegetativa e limitada dispersão de pólen e sementes, deve-se esperar que elas tenham pouca variação dentro de populações e relativamente mais variação entre populações. Da mesma forma, espécies com limitada distribuição ou colônias poderiam ter também altos

níveis de variação interpopulacional.

BAWA & KRUGMAN (1986) levantam a seguinte questão: a genética das espécies arbóreas tropicais é diferente das essências de regiões temperadas? Embora existam vários trabalhos na literatura, esta é uma questão difícil para se obter uma resposta que satisfaça todos os requisitos. Em um sentido amplo não há razão para indicar que os dois grupos diferem quanto aos mecanismos de herança das características principais, ou em seus sistemas genéticos. Isso porque, de modo geral, tanto na floresta tropical como na temperada, as essências florestais são de cruzamento e de longos períodos de vida.

Entretanto, essências tropicais têm características demográficas únicas e diversos modos de reprodução. Por exemplo, a maioria das essências tropicais ocorre nas florestas em baixa densidade. HUBELL & FOSTER (1983) encontraram que mais de 50% das espécies na floresta tropical do Panamá têm só de dois a três indivíduos por hectare com diâmetro acima de 20 cm. ASHTON (1984) registrou densidades semelhantes para a maioria das espécies em florestas do sudeste da Ásia. Além disso, as espécies exibem complexos padrões de florescimento (BAWA, 1983). A polinização é quase exclusivamente por animais, variando de minúsculas vespas a grandes morcegos (BAWA et al, 1985); os sistemas sexuais são igualmente diversos (ASHTON, 1969; BAWA, et al, 1985) e as sementes, na maioria das espécies, são dispersas por uma grande variedade de animais. Em

contraste, as essências de floresta temperada ocorrem tipicamente em altas densidades, são na maior parte polinizadas pelo vento, apresentam monoiccia e têm sementes dispersas pelo vento.

Além das diferenças quanto ao modo de distribuição e reprodução, as essências tropicais participam de ecossistemas bastante complexos. GILBERT (1980) sugere que a diversidade encontrada nas florestas tropicais está organizada de uma maneira bastante fragmentada no espaço e no tempo, promovida pela alta heterogeneidade do ambiente físico (microclima, solos, topografia), biótico (com realimentação positiva, mais espécies produzindo mais microambientes variáveis e mais nichos disponíveis para ainda mais espécies), fisiológico (variação na química do metabolismo secundário) e especialmente sucessional (pela frequência de perturbações brandas e imprevisíveis) nestes sistemas. KAGEYAMA (1987) também evidencia que há necessidade de um entendimento mais amplo da diversidade das florestas tropicais e de sua extrema complexidade de interações, para a conservação genética desses ecossistemas.

Fazendo-se uma associação entre as interações ecológicas e genéticas nos dois ecossistemas, floresta tropical e temperada, pode-se ter indicações da estrutura genética de populações que habitam nestes ecossistemas, o que pode levar à necessidade de diferentes estratégias de melhoramento e conservação genética para as suas populações.

2.3. O problema de medição da variação genética

Conforme colocam AYALA & KIGER Jr. (1984), para se saber quanto de variação existe em uma população é necessário que se conheça qual a porcentagem de locos polimórficos, em uma dada população, e qual a porcentagem de locos heterozigotos, em um indivíduo típico da população. Como seria impossível se estudar todos os locos de um organismo, amostras representativas devem ser obtidas e depois extrapoladas para toda a população. Essas determinações são possíveis através de várias técnicas, entre elas a eletroforese, que apresenta uma série de vantagens sobre os estudos de campo, principalmente no que diz respeito a rapidez dos resultados, o que para as essências florestais é muito importante, devido ao seu lento desenvolvimento nos ensaios de campo.

2.3.1. A técnica da eletroforese

FERET & BERGMANN (1976) e MARKERT (1983) fazem um breve histórico do uso da técnica da eletroforese, citando vários autores. Embora os princípios desta técnica já fossem conhecidos desde o século passado, somente a partir de 1926 ela teve um grande impulso, quando Summer conseguiu isolar e cristalizar a enzima urease, demonstrando que enzimas e proteínas são moléculas que podem ser purificadas. A partir de então a purificação e

cristalização de enzimas tornou-se uma das metas importantes para os bioquímicos. Na década de 40, Beadle & Tatum formularam a teoria de "um gene uma enzima", dando origem à genética relacionada às isoenzimas. O primeiro esforço para caracterizar proteínas, através da mobilidade eletroforética em meios semi-porosos, foi realizado por Coolidge em 1939, seguindo-se Durrum que em 1950 separou proteínas, usando tiras de papel. Smithies em 1955 introduziu o gel de amido como suporte para a eletroforese, fornecendo uma resolução superior ao meio de papel, além de separar as proteínas pelo tamanho e forma, destacada através de sua migração no gel. O termo isoenzimas só foi proposto no final dos anos 50 por Markert & Möller com a finalidade de designar as formas moleculares múltiplas nas quais as enzimas podem existir num mesmo organismo. Desde a criação deste conceito, centenas de trabalhos têm sido feitos, relacionando as isoenzimas. GOTTLIEB (1971) coloca que um novo termo "aloenzima" foi proposto para designar as diferentes formas de proteínas produzidas por diferentes alelos em um mesmo loco.

O número de estudos, que usam técnicas bioquímicas para medir a variação genética em essências florestais, tem estado aquém daqueles que usam características quantitativas. Estes concentram os seus estudos em caracteres morfológicos e fisiológicos, tais como sobrevivência, crescimento em altura e diâmetro, além de várias características relacionadas a folhas, caule, fruto e qualidade da madeira. Porém, a genética básica destas

características é pouco entendida, sendo de limitado uso em estudos de genética de populações. Isto vem favorecendo o uso de técnicas eletroforéticas (identificação de produtos de genes, por sistemas enzimáticos) que desde o início da década de 70 vêm sendo aplicadas aos estudos genéticos em populações de essências florestais (HAMRICK et alii, 1979).

O processo de eletroforese consiste na separação de moléculas enzimáticas por sua carga elétrica, tamanho e forma, através da migração em um meio suporte e tampões adequados sob a influência de um campo elétrico. A eletroforese de zona constitui a técnica mais usada, seguida pela aplicação de métodos histoquímicos de coloração, para poder localizar as zonas de atividade enzimática diretamente no meio suporte. Desta forma, as diferentes proteínas de um organismo podem ser separadas de conformidade com suas respectivas migrações, constituindo-se nas isoenzimas. Estas são, praticamente, produtos de ação direta dos genes e definidas como diferentes formas moleculares de proteínas, exibindo a mesma especificidade enzimática num organismo (HEIDRICH-SOBRINHO, 1982). Desta forma, o estudo de uma série de proteínas, sem um conhecimento prévio se ela é variável ou não na população, representa uma amostra imparcial de toda a estrutura gênica do organismo.

MEDINA FILHO (1983) coloca vários argumentos a favor da técnica da eletroforese, tais como a sua aplicabilidade a qualquer tipo de planta e, de imediato, revelar grande número de locos e alelos; o fato dos

equipamentos empregados em eletroforese serem de fácil operação, econômicos e bastante simples; a facilidade na utilização do gel de amido, pelo fato de ser atóxico e oferecer uma grande vantagem sobre os outros tipos, o de poder ser cortado em diversas camadas horizontais, sendo que cada uma delas pode ser revelada para um sistema enzimático diferente.

CONKLE et alii (1982) apresentam produtos para a elaboração do gel de amido e dos tampões, assim como procedimentos para regulagem da voltagem e amperagem da fonte eletroforética, além de uma lista de reagentes que participam dos vários processos. MARCON (1988) sugere o uso de 1/3 de amido importado da marca Sigma e 2/3 de amido nacional, a penetrose 30, o que pode reduzir os custos das análises. Uma metodologia usada em laboratório também é descrita pelo autor. Diversos sistemas enzimáticos são necessários para analisar um número máximo de enzimas. RUDIN (1977), PIRES (1983), PITEL & CHELIAK (1984) e FALKENHAGEN (1985) relacionaram alguns dos sistemas enzimáticos mais usados no estudo de proteínas em essências florestais, o que dá uma boa indicação para aqueles que pretendem elaborar um protocolo para uma espécie que não o tenha.

Na escolha de um sistema enzimático, o primeiro passo é a determinação do tampão de extração para o tipo de material da planta (parte da planta que será macerada e utilizada nas corridas eletroforéticas). Este material pode ser: a) semente macerada; b) plântulas inteiras obtidas em

germinador; c) divisão destas plântulas em folhas cotiledonares, hipocótilo, epicótilo e radícula; d) material de cultura de tecido; e) folhas adultas, etc..

Várias soluções de extração e tampões da cuba e do gel são citados na literatura, tais como em: SCANDALIOUS (1969), SHAW & PRASAD (1970), MITTON et alii (1979), TANSKLEY & ORTON (1983), CHELIAK & PITEL (1984), MARTY et alii (1984), PITEL & CHELIAK (1984), PASTEUR et alii (1987), LEBRUN & CHEVALLIER (1988), WENDEL & WEEDEN (1989), YAMADA & GURIES (1989), KANASHIRO (1990), ALFENAS et alii (1991) e SANTOS (1991). O efeito de cada componente dentro da solução de extração, dá uma idéia da necessidade ou não do uso de determinadas drogas. Estas recomendações foram encontradas em: SANTOS & MESTRINER (1989), SANTOS (1990) e KEPHART (1990), sendo que neste último trabalho é feita uma discussão e avaliação criteriosa de todas as etapas que envolvem a técnica da eletroforese.

Definido o protocolo da espécie que se pretenda estudar é possível então, com base nos trabalhos de WRIGHT (1965, 1978), NEI (1972, 1973, 1975, 1977), HAMRICK (1983) e WEIR (1990) obter várias estimativas de parâmetros a partir das frequências gênicas, obtidas pela observação dos fenótipos eletroforéticos, tais como o número de locos polimórficos (P), o número médio de alelos por loco ($\bar{A}$), a heterozigosidade média ($\bar{H}$) e aqueles que possibilitam a estimativa da divergência genética entre populações (G_{ST} , F_{ST} , θ_2 e D que serão definidos, posteriormente); como

também os índices de fixação ou coeficientes de endogamia (F_{IT} , F_{IS} , F e f que também serão discutidos, adiante).

BROWN & ALLARD (1970) discutem também o uso destes parâmetros na determinação do sistema de cruzamento da espécie, argumentando que isto é possível, pois a herança é codominante, o que permite a identificação do genótipo de cada indivíduo sem o uso dos testes de proenies e que pode-se encontrar diversos locos marcadores, com relativa facilidade, o que permite estimar o tipo de sistema de cruzamento. Além disso, o método de comparar a estimativa da taxa de cruzamento (t) produz melhores informações sobre a endogamia do que o da autofecundação. A determinação das taxas de cruzamento é discutida por vários autores como em BROWN et alii (1975) para *Eucalyptus obliqua*, SHAW & ALLARD (1982) para *Pseudotsuga menziessi*, O'MALLEY & BAWA (1987) para *Pithecellobium pedicellare*, entre outros. Comparações teóricas entre metodologias para estimativas de " t " podem ser obtidas em JAIN (1979) e RITLAND & JAIN (1981) entre outros.

2.3.2. O uso das técnicas quantitativas

Pelos métodos tradicionais de genética quantitativa é impossível se determinar quantos e quais locos são polimórficos na população, pois o caráter é controlado por muitos genes analisados conjuntamente. Com a técnica da eletroforese é possível não só o estudo de um

gene em particular, como também sobre a expressão de um conjunto gênico da população. Portanto, conforme a proporção de indivíduos de determinadas classes são feitas inferências sob o envolvimento de um ou mais genes. Assim, o entendimento da estrutura genética das espécies florestais só poderá ser possível, com o auxílio de técnicas, tais como a da eletroforese, sendo quase que impossível com os usuais testes genéticos de campo que demandam grandes áreas, longo tempo e alto custo (KAGEYAMA, 1990).

O grande problema dos ensaios de campo se relacionam com a representatividade das populações, pois o seu tamanho, modo de reprodução, sistema de cruzamento, dispersão de sementes e pólen influenciam diretamente o tamanho efetivo da mesma. Esse conceito de tamanho efetivo populacional, introduzido por Sewall Wright há mais de 50 anos, relaciona-se intimamente com a questão da representatividade genética de amostras de plantas de sementes, cuja preocupação maior, do ponto de vista da genética de populações, é com a erosão genética causada pelas depredações humanas (VENCOVSKY, 1987b).

Os testes de progênies de polinização aberta são os que vêm sendo utilizados com maior frequência em espécies florestais. Isto é devido à facilidade de instalação, em relação aos ensaios de progênies que exigem polinização controlada, o que em essências florestais é difícil de ser realizado (KAGEYAMA, 1980). Segundo CALLAHAN (1963), KEMP (1976), NAMKOONG et alii. (1980), SHIMIZU et

alii. (1982) e COTTERILL (1990), um número ao redor de 10 a 30 famílias por população é adequado para fornecer informações representativas sobre a variabilidade genética das populações. Nestes trabalhos também são incluídas as metodologias de amostragem que devem ser feitas nas populações naturais.

A estimativa de parâmetros genéticos, através de testes de progênies, vem permitindo o desdobramento da variação total e a estimativa dos seus componentes, possibilitando ao melhorista o conhecimento da estrutura genética do material em estudo. Isto contribui para as estimativas do progresso na seleção de determinadas características importantes, bem como a aplicação de métodos de melhoramento mais adequados à população que se está estudando (FALCONER, 1981).

Dentre as estimativas dos parâmetros genéticos, a variância genética aditiva é o componente mais importante, pois é a principal causa da semelhança entre parentes; logo, ela é o melhor indicador das propriedades genéticas observadas em uma população e sua resposta à seleção. A estimativa de outros parâmetros, tais como herdabilidade e correlações genéticas, são necessários para uma eficiente seleção a ser realizada nas populações (FALCONER, 1981).

O problema do pequeno número de famílias utilizadas nos testes de progênies de essências florestais também foi abordado por KAGEYAMA (1980). Isto se dá muitas

vezes devido às dificuldades impostas, tanto na coleta do material, como na instalação e condução dos ensaios, dada a sua grande extensão de área. Deste modo, pode haver uma imprecisão na estimativa dos parâmetros genéticos. VELLO & VENCovsky (1974) apresentam expressões de estimativas dos erros associados às variâncias genéticas e à herdabilidade, salientando que os erros são inversamente proporcionais aos graus de liberdade para progênies e resíduo, e ao número de repetições e de plantas por parcela.

Segundo CRUZ (1987) vários caracteres podem ser utilizadas em estudos de divergência genética entre populações. Porém, é difícil apontar quantos e quais são necessários para se ter uma classificação eficiente dos genótipos e/ou populações. Por outro lado, tem sido relatado que caracteres importantes para adaptação e seleção natural são mais apropriados e devem ser escolhidos para os estudos de divergência e agrupamento. Muitos destes estudos de divergência genética estão associando os caracteres quantitativos com a heterozigosidade, obtida na análise das isoenzimas, como em HAMRICK & ALLARD (1975), EL-KASSABY (1983) e KIANG & CHIANG (1990), entre outros.

2.4. Variação de isoenzimas em espécies arbóreas

2.4.1. Espécies arbóreas de floresta temperada

Sem uma variabilidade genética suficiente para

as características que são de valor econômico, tentativas de usar o melhoramento genético em floresta será um insucesso. Portanto, o primeiro passo, quando se começa um programa de melhoramento, é determinar a quantidade, causa e natureza da variação que está presente nas populações naturais da espécie de interesse e aprender como usá-las (ZOBEL & TALBERT, 1984). Este conhecimento irá refletir na eficiência das estratégias de melhoramento que serão aplicadas a estas populações naturais. Desta forma, em populações com alta variação genética, as oportunidades de se obterem grandes progressos por seleção são maiores do que em populações com baixa variação (RUDIN & LINDEKVIST, 1977).

O uso da eletroforese em gel, utilizando-se das isoenzimas para inferir sobre o grau de variabilidade gênica em populações naturais de coníferas, tem permitido aos pesquisadores, investigarem muitas questões básicas da biologia evolutiva (RUDIN, 1976). Estas questões dizem respeito ao nível de heterozigosidade dentro de populações, distribuição da variabilidade genética dentro e entre populações locais, comparação entre a quantidade de variação gênica entre populações centrais e marginais, como também os sistemas de cruzamento (RUDIN & LINDGREN, 1977).

A inerente variabilidade dentro de espécies de coníferas é o material bruto para estudos genéticos, tanto em processos naturais (evolutivos) como certificação (seleção para melhoramento). Alguns estudos como em O'MALLEY et alii (1979), YEH & EL-KASSABY (1979), YEH & LAYTON

(1979), YEH & O'MALLEY (1980) têm mostrado que a maioria das coníferas apresentam alta heterozigosidade.

O alto nível de heterozigosidade média detectada em coníferas ($\bar{H} = 0,270$, MITTON, 1983) é provavelmente devido a numerosos fatores como: seleção divergente para adaptações macrogeográficas (ALLARD et alii 1972), seleção balanceada para diferenciação microgeográfica (HAMRICK & ALLARD, 1972; MITTON et alii, 1977) e um sistema de cruzamento aberto que facilita o fluxo gênico dentro e entre subpopulações. A heterose poderia promover uma maior manutenção na variabilidade gênica (LEWONTIN et alii 1978). Uma notável exceção a regra de alta heterozigosidade em coníferas é o *Pinus resinosa*. FOWLER & MORRIS (1977) supõem que esta espécie sofreu durante o pleistoceno uma redução de sua população, como resultado da glaciação (efeito "gargalo de garrafa").

Conforme coloca YEH (1980) o uso da variabilidade de isoenzimas, para estudar a variação intra e interespecífica, tem sido muito útil. Variações isoenzimas de diferentes regiões bioclimáticas têm aumentado o conhecimento sobre as relações entre os tipos de populações, auxiliando na identificação de ecótipos.

Mudanças na dinâmica da estrutura genética de uma população de *Pinus sylvestris* foi estudada por YAZDANI et alii (1985) utilizando-se da técnica de isoenzimas. Neste estudo utilizaram de árvores adultas, embriões de sementes e árvores jovens. Foram analisados quatro locos com estes três

estágios de vida da planta, observando-se que a heterozigosidade média foi maior nas árvores adultas, vindo a seguir as árvores jovens e depois os embriões de sementes. Quanto ao índice de fixação (F) o mesmo apresentou valores positivos em todos os locos, na fase de embrião ($\bar{F} = 0,198$), enquanto que, o inverso ocorreu na fase adulta ($\bar{F} = -0,042$). Quanto a fase de árvores jovens, dois locos apresentaram valores negativos e os demais positivos. Estes resultados indicam um excesso de homozigotos na fase embrião e uma carência dos mesmos na fase adulta. Portanto, a endogamia observada na fase de embrião acaba sendo eliminada pela morte de muitos indivíduos devido a existência de alelos letais, ou então, pela seleção natural favorável aos heterozigotos. Resultados semelhantes foram encontrados por BROTSCHOL et alii (1986) em populações de *Liriodendron tulipifera*, uma angiosperma, sendo que o excesso de homozigotos na fase de plântulas é explicado como sendo resultado da endogamia.

GURIES & LEDIG (1982) estudaram a diversidade gênica e a organização da variabilidade genética em 11 populações de *Pinus rigida* na área de distribuição da espécie. Somente uma pequena parte da diversidade gênica observada foi devida às diferenças interpopulacionais, sendo que a maior parte foi devida às diferenças entre indivíduos dentro de populações, o que concorda com resultados encontrados por vários autores em outras espécies. Também foi observado que as populações centrais parecem ser mais

variáveis, do que aquelas da periferia. Semelhantes correlações entre categorias dentro de populações (isto é marginal, intermediária e central) foram encontradas por YEH & LAYTON (1979), em populações de *Pinus contorta*. PLESSAS & STRAUSS (1986) compararam a variação genética entre três populações de *Pinus radiata*, encontrando que 94,9% da diversidade genética está dentro de sub-populações, 1,6% entre sub-populações dentro de populações e 3,5% entre populações. Segundo os autores a seleção de progênies com maior grau de cruzamento foi o que resultou no desenvolvimento das sub-populações.

NIKOLIC' & TUCIC' (1983), analisando a variação isoenzimática em 28 populações naturais de *Pinus nigra*, usando os índices de NEI (1973), encontraram que a heterogeneidade dentro de populações é maior do que a entre populações ou sub-populações. YEH et alii (1986) analisaram 21 populações de *Picea mariana* encontrando que só 5,9% da variação genética observada foi interpopulacional, sendo que o restante foi devido a diferenças entre indivíduos dentro da população. Populações de *Picea mariana* foram analisadas em terras altas e baixas por O'REILLY et alii (1985) encontrando maior diferenciação entre aquelas de terras altas, do que as de terras baixas. Esta maior distribuição de variação em populações de terras altas foi atribuída às pressões seletivas de sobrevivências das plântulas, resultado dos efeitos edáficos seletivos.

CONKLE (1980) determinou a quantidade de

variação genética em diversas coníferas: *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus taeda*, *P. lambertiana*, *P. attenuata*, *P. contorta* e *P. jeffreyi*, analisando o número de alelos por loco e a heterozigosidade da espécie. Estas medidas indicaram que as coníferas são geneticamente variáveis e que as espécies diferem no tipo e na quantidade de variação que elas contenham.

Conforme colocam RYU & ECKERT (1982) a determinação da variação genética dentro e entre populações é uma estratégia importante para se decidir os programas de melhoramento florestal. Os estudos que vêm usando dados de isoenzimas têm dado informações sobre o sistema de cruzamento e as comparações da história vital, têm mostrado padrões consistentes que caracterizam as estratégias genéticas que devem ser seguidas no melhoramento e na domesticação de coníferas (CONCKLE, 1980; YEH, 1980). Embora a eletroforese possa auxiliar em programas de melhoramento, através da seleção indireta, estes estudos apesar de interessantes, são também bastante complicados, laboriosos e principalmente de difícil interpretação (PIMENTEL, 1988).

2.4.2. Espécies arbóreas de floresta tropical

Em florestas tropicais há uma grande diversidade de espécies de árvores que crescem juntas aparentando ter as mesmas exigências edáficas. Porém, os indivíduos, da maioria das espécies nas florestas tropicais,

ocorrem isoladamente e há uma abundância de flores hermafroditas, sugerindo que as espécies eram de autofecundação. Porém, o que foi constatado por BAWA (1974), em estudos realizados com 130 espécies arbóreas da floresta tropical da Costa Rica, era que havia a predominância da fertilização cruzada entre os indivíduos, para as diferentes espécies estudadas. Tal informação é de vital importância para o entendimento dos padrões de fluxo gênico entre e dentro de populações de uma espécie, como também para se entender os processos de especiação e das relações que existem entre as espécies da floresta tropical. Neste sentido, o estudo de isoenzimas em diversas espécies representativas da floresta tropical, tem a finalidade de fornecer subsídios para se compreender melhor a estrutura genética de tais ecossistemas.

HAMRICK & LOVELESS (1986) chamam a atenção para a pequena quantidade de trabalhos com espécies tropicais, referentes a estudos que determinem os níveis de distribuição da variação genética entre e dentro de populações, ressaltando que a maioria dos trabalhos se concentram em coníferas. Esses dados, segundo os autores, são de crucial importância para diversos aspectos da biologia tropical, como por exemplo, as explorações dos recursos florestais e os programas de melhoramento e conservação genética das espécies arbóreas tropicais.

Dados de 122 estudos, representando cerca de 91 espécies de plantas, compreendendo 47 gêneros e 19

famílias, foram usados por HAMRICK (1983), com a finalidade de estimar a variação de aloenzimas entre e dentro de populações naturais. Neste estudo a história vital das espécies foi considerada, tendo sido estudadas as seguintes fases: amplitude geográfica, modo de reprodução, sistema de cruzamento, mecanismo de dispersão de sementes e, estágios de sucessão nos quais a espécie ocorre mais frequentemente. Estes resultados vieram comprovar aqueles encontrados por HAMRICK et alii (1979), onde as plantas com alta amplitude geográfica, alta fertilidade e modo de reprodução por cruzamento, polinização pelo vento, um longo tempo de vida e habitats que representam os últimos estágios da sucessão, tendem a ter mais variações isoenzimática do que espécies com outras combinações das características da história vital.

HAMRICK (1983), com base nestes resultados, sugere que as características da história vital das espécies devem ser bem entendidas, a priori, para desenvolver uma estratégia de manejo. Além disso, embora os estudos de eletroforese forneçam os meios mais eficientes de quantificar a distribuição da variação genética, eles não podem predizer o padrão de variação de determinadas características. Estudos de aloenzimas, feitos em conjunto com os de distribuição da variação genética das características quantitativas, permitirão o desenvolvimento de estratégias de manejo com sucesso.

HAMRICK & GODT (1990) ampliaram os estudos

realizados por HAMRICK (1983), envolvendo um número maior de espécies e detalhando melhor as fases da história vital das plantas, encontrando na média que 50% dos locos das espécies de plantas estudadas são polimórficos e que 78% da diversidade genética encontrava-se dentro das populações.

GAN et alii (1981) conduziram estudos de variação de isoenzimas em algumas espécies da floresta tropical da Malásia. Neste estudo foram testados sistemas enzimáticos como esterases, GOT, fosfatase, catalase e peroxidase, sendo que os três primeiros apresentaram os melhores resultados, quanto à resolução das bandas. Foram utilizados extrato de folhas das espécies em três estágios (plântulas, árvores jovens e adultas). Neste trabalho os autores encontraram um alto nível de variação genética intrapopulacional nas espécies estudadas, como também diferenças genéticas entre os estágios de vida das plantas estudadas, sendo que algumas bandas estavam presentes em árvores adultas e ausentes nas plântulas ou vice-versa.

HEYWOOD & FLEMING (1986) estudaram a variação de aloenzimas em populações simpátricas de três espécies de plantas da família Piperaceae na Costa Rica. Os níveis de diversidade genética intrapopulacional, para as três espécies estudadas, foram relativamente baixos. A distância genética de NEI (1972) entre espécies variou de 0,454 a 0,988, o que reforça a idéia de que este gênero é relativamente velho.

A variação genética de 29 espécies tropicais

foi estudada em eletroforese de gel de amido por HAMRICK & LOVELESS (1986). Neste estudo os autores utilizaram-se de amostras de folhas, sendo que 20 sistemas enzimáticos foram testados, produzindo uma média de 26 bandas por taxon, das quais 28% eram polimórficas. Estas espécies foram polimórficas para aproximadamente 28% de seus locos (P); tendo em média 1,45 alelos por loco (A) e 2,57 alelos por locos polimórficos (A_p), sendo 11% de seus locos heterozigotos ($\bar{H}$). Neste estudo houve espécies com alto nível de variação, quando medida por heterozigosidade individual, como *Sorocea affinis* (0,216) e espécies com nenhuma variação, como em *Faramea occidentalis* (0,000).

Estudos realizados por MURAWSKI et alii (1990), em duas espécies de bombacaceae na Ilha de Barro Colorado, na República do Panamá, em relação ao seu sistema reprodutivo, mostraram que a espécie, com distribuição do tipo rara, apresentava uma taxa de fertilização cruzada (t) variando de 0,57 a 0,35, de um ano para o outro. Enquanto que, a espécie de distribuição do tipo comum apresentou valores de "t" superiores a 0,77. Portanto, segundo os autores, a manutenção de altos níveis de variação isoenzimática está associada a altas taxas de cruzamento, extenso fluxo gênico e, grande tamanho de vizinhança. Por outro lado, espécies com indivíduos distribuídos de forma do tipo rara, são de cruzamento, mas apresentam um certo grau de autocompatibilidade.

O uso das isoenzimas no melhoramento e

conservação de espécies florestais começou com coníferas e folhosas de clima temperado, passando em seguida para as espécies da floresta tropical. Verifica-se nestes estudos apresentados na Tabela A1 (ver apêndice) a quantidade de alelos e locos que já foram identificados para se conhecer a estrutura genética das populações das espécies estudadas. Em relação as coníferas os sistemas enzimáticos mais utilizados são: LAP, EST, AAT, PGM, PER, ACP, PGI, GDH, 6PGD, IDH e MDH, apresentando uma média de 2,95 alelos por loco. Quanto as angiospermas os mais utilizados são: MDH, AAT, LAP, PER, PGI, PGM, SKDH, ACP, 6PGD, IDH e EST, com uma média de 2,54 alelos por loco. Dos onze sistemas enzimáticos mais utilizados, verifica-se que dez são comuns a ambos grupos de plantas, mas em ordem de preferência diferente. Este levantamento também mostra que o número de estudos com espécies arbóreas temperadas é muito maior, do que nas tropicais, tendo como causa principal a falta de condições, para este tipo de estudo, nos países que possuem florestas tropicais, pois a maioria dos trabalhos com estas espécies foram feitos por pesquisadores americanos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

As sementes das famílias que constituem os testes de progênies foram obtidas de 28 árvores de polinização livre, em 1986, de cada uma das populações estudadas (Bauru-SP, Pop. B e Selvíria-MS, Pop. S). As sementes colhidas das mesmas populações em 1991, serviram para a elaboração de um protocolo, para a aroeira, utilizando-se da técnica da eletroforese.

Uma caracterização dos locais de origem das populações é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1. Características geográficas dos locais das populações estudadas

Localidade (População)	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Bauru-SP	22° 19'S	45° 04'W	526
Selvíria-MS	20° 19'S	51° 26'W	372

As duas populações naturais estudadas são de indivíduos remanescentes, após a exploração da floresta

primária existente nos dois locais. Deve-se ressaltar que parte destes indivíduos devem ser resultados de regeneração natural, ocorrida após a perturbação ocorrida na floresta primária.

3.2. Métodos

3.2.1. Instalação dos testes de progênies e estimativa dos parâmetros genéticos

Os testes de progênies de aroeira foram instalados em dezembro de 1987, na Fazenda Experimental da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP, no município de Selvíria-MS, com mudas formadas no próprio local. O delineamento experimental utilizado, em cada um dos testes de progênies, foi o de blocos casualizados, com 28 tratamentos (famílias) e três repetições. As parcelas do experimento eram lineares com dez plantas, no espaçamento de 3,0 x 3,0 m, sendo que todas as plantas foram utilizadas na coleta dos dados.

Os caracteres silviculturais avaliados foram: altura de plantas e altura da primeira bifurcação, determinados com auxílio de uma régua graduada; diâmetro médio da copa que correspondeu a média da leitura da projeção da copa na linha e na rua, medida com uma trena. As demais características silviculturais foram obtidas a 30 cm do solo: diâmetro do fuste com casca ($\emptyset$), medido com uma

trena; espessura da casca, obtida através da utilização de um vazador cilíndrico de diâmetro constante (ϕ_1), para retirada da casca, sendo que a espessura (e) era lida por um paquímetro e o resultado multiplicado por 2; densidade da casca, obtida pela relação entre o peso seco ($103^{\circ} \pm 2$) e o volume ($V_c = e \cdot \phi_1$), da do disco da casca retirada; densidade básica da madeira, cuja determinação baseou-se em SILVA (1984), para métodos não destrutivos, utilizando-se de um arco de pua com uma broca de diâmetro constante ($\phi_2 = 3/8"$), no lugar da Sonda Pressley; peso da matéria seca da copa (vide apêndice).

A determinação dos caracteres nutricionais se referiu ao percentual dos macronutrientes: N (%); P (%); K (%); Ca (%); Mg (%) e S (%) nas folhas de aroeira. Estas determinações basearam-se nas recomendações de TRANI et alii (1983), onde foram colhidas folhas de aroeira em quatro partes diferentes da copa. As análises, para determinação desses macronutrientes, foram feitas conforme a descrição de MALAVOLTA et alii (1989). Tanto as características silviculturais como as nutricionais foram determinadas aos 3,5 anos de idade, nos testes de progênies de ambas as populações.

As estimativas dos parâmetros genéticos para as características quantitativas (silviculturais e nutricionais) foram analisadas, ao nível de média de parcelas, baseando-se em KAGEYAMA (1980) e VENCovsky (1987a). Também foram utilizadas as relações de FONSECA

(1982), $RF = (\hat{\sigma}_D^2 / \hat{\sigma}_P^2)$, e a de PIRES (1984), $RP = (\hat{\sigma}_D^2 / \hat{\sigma}_E^2)$, para se fazer inferências sobre o sistema reprodutivo da espécie.

Uma análise conjunta envolvendo os dois experimentos, foi realizada, ao nível de média de famílias, para se obter a diferença entre populações, para cada uma das características quantitativas estudadas. As fontes de variação e as esperanças dos quadrados médios, referentes a este modelo hierárquico, são apresentadas na Tabela 2; sendo que a estimativa da variância entre plantas dentro de famílias ($\hat{\sigma}_D^2$) foi obtida fora da análise de variância, baseando-se em KAGEYAMA (1980). Considerando-se as fontes de variação segundo o modelo aleatório, o modelo matemático adotado ficou sendo o seguinte:

$$Y_{ijuv} = m + r_{j(i)} + p_i + f_{u(i)} + e_{ju(i)} + d_{v(iju)} \quad (7)$$

onde: Y_{ijuv} é a observação na árvore v, da população i, na família u da repetição j; m é a média geral; $r_{j(i)}$ é o efeito da repetição j dentro da população i, onde $j = 1, 2, \dots, c$; p_i é o efeito da população i, com $i = 1, 2, \dots, a$; $f_{u(i)}$ é o efeito da família u, dentro da população i, com $u = 1, 2, \dots, b_i$; $e_{ju(i)}$ é o efeito do erro referente à parcela ij na população i e $d_{v(iju)}$ é o desvio referente à árvore v da parcela ij na população i.

TABELA 2. Esquema da análise de variância conjunta, utilizado na análise de cada uma dos caracteres quantitativos nas duas populações de aroeira estudadas, tendo com fonte de variação: repetições/populações (R/P), populações (P), famílias/populações (F/P) e o erro médio (E/P).

FV	GL	QM	E(QM)	F
R/P	(c-1)a	QM_R	$(1/\bar{n})\sigma_D^2 + \sigma_E^2 + b\sigma_R^2$	QM_R/QM_E
P	(a-1)	QM_P	$(1/\bar{n})\sigma_D^2 + \sigma_E^2 + c\sigma_F^2 + b\sigma_R^2 + bc\sigma_P^2$	$\frac{QM_P + QM_E}{QM_R + QM_F}$
F/P	(u-1)a	QM_F	$(1/\bar{n})\sigma_D^2 + \sigma_E^2 + c\sigma_F^2$	QM_F/QM_E
E/P	(c-1)(u-1)a	QM_E	$(1/\bar{n})\sigma_D^2 + \sigma_E^2$	-
Dentro	$\sum_i \sum_u GL_{iu}$	QM_D	σ_D^2	

sendo: $\bar{n}$ a média harmônica do número de plantas dentro de parcelas, nas populações estudadas; a o número de populações; b o número de famílias; c o número de repetições.

As estimativas dos parâmetros genéticos obtidos desta análise de variância foram baseadas em HAMRICK (1976) que propõe relações que dão informações a respeito da variância genética entre e dentro de populações em relação a total: a) $\hat{\sigma}_P^2/\hat{V}_G$, (8), que corresponde a proporção da variância entre populações em relação a total, onde: $\hat{V}_G = \hat{\sigma}_D^2$

+ $\hat{\sigma}_F^2$ + $\hat{\sigma}_P^2$ (a); b) $\left[\hat{\sigma}_F^2 / \hat{N}_o + \hat{\sigma}_D^2 / \hat{N}_o \right]$, (a), cuja relação corresponde a proporção da variância dentro de populações em relação a total, onde $\hat{\sigma}_F^2$ é a variância entre famílias dentro de populações, e $\hat{\sigma}_D^2$ é a variância dentro de parcelas.

3.2.2. Análises eletroforéticas

As análises eletroforéticas foram realizadas no Laboratório de Biologia Reprodutiva e Genética de Espécies Arbóreas do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP, em Piracicaba-SP, sendo testados vários sistemas enzimáticos: ADH (E.C. 1.1.1.1), ALD (E.C. 4.1.2.13), G2D = G2DH (E.C. 1.1.1.29), GDH (E.C. 1.4.1.3), GPD = G3PDH (E.C. 1.2.1.12), MDH (E.C. 1.1.1.37), ME (E.C. 1.1.1.40), IDH = ICD (E.C. 1.1.1.42), GOT = AAT (E.C. 2.6.1.1), LAP (E.C. 3.4.11.1), G6P = G6PD = G6PDH (E.C. 1.1.1.49), PGM (E.C. 2.7.5.1), PGI = GPI (E.C. 5.3.1.9), SKD = SKDH (E.C. 1.1.1.25), 6PG = 6PGDH = PGD (E.C. 1.1.1.44), ACP (E.C. 3.1.3.2), α -EST (E.C. 3.1.1.1), β -EST (E.C. 3.1.1.1). Uma abordagem sobre o padrão de resolução de bandas conseguida para estes sistemas enzimáticos é feita no item 4.1.

Dada a impossibilidade de trabalhar com todos estes sistemas e visando maximizar o trabalho, aqueles que permitiram identificar alelos e locos, em um mesmo conjunto de tampões de cuba e gel, foram: IDH, AAT e LAP. O protocolo utilizado na resolução destes três sistemas é descrito a

seguir:

I. Solução de extração:

Para a escolha do tipo de material da planta e do solução de extração foram feitos vários testes, sendo que o material escolhido foram as folhas cotiledonares, com sete dias após a semeadura e o solução de extração teve a seguinte constituição:

- 0,1M tampão fosfato, pH = 7,5
- 5% sacarose (p/v)
- 5% PVP - 40 (p/v)
- 0,1% soro albumina bovina (BSA) (p/v)
- 0,003M ditioneitol (DTT).

A formulação deste solução de extração baseou-se nas descrições feitas por WENDEL & WERDEN (1989) e SANTOS (1990), onde este descreve as funções de cada componente, incluídos nesta solução.

II. Tampões da cuba e do gel - TC

a. tampão da cuba

- 0,135M Tris
- 0,043M ácido cítrico
- pH = 7,0 titulado com Tris 1M ou ácido cítrico 1M

b. tampão do gel (diluição de 1:14 do tampão da cuba)

- pH = 7,5, titulado com Tris 1M

c. constituição do gel, para um, volume de 210ml

- 12% amido "Sigma" - 25,2g

- 210ml do tampão do gel "TC"

d. condições de corrida: voltagem constante igual a 200V; com uma amperagem inicial e final na fonte igual a 38 mA e 30 mA, respectivamente; tempo de corrida 5:30 h, para um frente de 10 cm.

Em relação ao tampão TC, proposto por YAMADA & GURIES (1989), houve alteração no pH do tampão dos autores, na concentração do Tris e do ácido cítrico, como também na diluição do tampão da cuba, para a formação do tampão de gel (item b).

III. Sistemas de colorações estudadas

A metodologia adotada para a padronização do protocolo de aroeira, utilizando-se de folhas cotiledonares, foi a seguinte:

a. Corte do gel.

O gel era cortado em quatro fatias, sendo que a primeira era descartada, a segunda, a terceira e a quarta eram utilizadas para as colorações dos sistemas IDH, AAT e LAP, respectivamente.

b₁. Sistema de Coloração: Isocitrato Desidrogenase (IDH - EC 1.1.1.42)

tampão Tris-HCl 0,2M; pH = 8,0 ----- 25 ml

DL-ácido isocítrico, Na ₃	-----	25 mg
NADP ⁺ , Na ₂	(5 mg/ml) -----	1 ml
MgCl ₂	(5 mg/ml) -----	1 ml
MTT	(5 mg/ml) -----	1 ml
PMS	(5 mg/ml) -----	1 ml
Agar 2%	-----	25 ml

O gel era incubado no escuro, em estufa a 37°C, durante 30 minutos, até as bandas aparecerem. Este sistema de coloração baseou-se em YAMADA & GURIES (1989).

b₂. Aspartato aminotransferase (AAT) [= Glutamato - oxaloacetato transaminase (GOT - EC 2.6.1.1)]

Solução AAT*	-----	50 ml
Fast Blue BB salt	(50 mg/ml) -----	1 ml

* Solução AAT (pH=7,4) preparada na forma de solução estoque:

H ₂ O	-----	800 ml
ácido α-cetoglutárico	-----	292 mg
ácido L-aspártico	-----	1,07 g
PVP-40 (polivinilpirrolidona)	-----	4,00 g
EDTA	-----	400 mg
fosfato de sódio, dibásico	-----	11,36 g

O gel era incubado, no escuro, em estufa a 37°C, durante 30 minutos, até as bandas aparecerem. As

bandejas de coloração eram cobertas, com papel alumínio. Este sistema de coloração baseou-se em WENDEL & WEEKEN (1989).

b₃ . Leucina aminopeptidase (LAP - EC 3.4.11.1)

tampão Tris-maleato 0,1M; pH = 5,4 -----	20 ml
L-leucina- β -naftilamida-HCl ----- (250 mg/100 ml)	10 ml
"Fast Black K salt" -----	20 mg
H ₂ O destilada -----	50 ml

O gel era incubado, no escuro, em estufa a 37°C, durante 30 minutos, até as bandas aparecerem. O "Fast Black K salt" era dissolvido antes da coloração, dentro de um frasco escuro, sobre um agitador magnético. Este sistema de coloração baseou-se em LEBRUN & CHEVALLIER (1988).

Após a revelação, os géis eram lavados e fixados em solução de glicerina a 10% por duas a três horas; em seguida eram transferidos para a solução de transparentização (65% de metanol e 0,5% de glicerina).

IV. Leitura dos zimogramas

A leitura dos zimogramas era feita antes da fixação dos géis. Esta leitura consistia em se colocar o gel sobre uma placa de vidro, enxugá-lo e cobri-lo com uma folha de polietileno transparente, permitindo assim, que fossem

feitos os desenhos das bandas em suas reais dimensões de migração, com uma caneta de retro-projetor. Uma folha de papel sulfite branca era colocada sob a placa de vidro, para contraste, o que facilitava a visualização das bandas.

3.2.2.1. Análise estatístico-genética

Nas análises eletroforéticas foram utilizadas 25 famílias da população B e 26 da população S, sendo utilizados 20 indivíduos por família em ambas as populações. Portanto, adotou-se o modelo proposto por WEIR (1990) de análise de variância, para cada alelo identificado, obedecendo um esquema hierárquico desbalanceado, com três níveis de hierarquia:

$$Y_{ijkl} = m + p_i + f_{j(i)} + g_{k(i,j)} + h_{l(i,j,k)} \quad (11)$$

onde: Y_{ijkl} é a frequência do gene l , dentro do indivíduo k , na família j da população i ; m é a média geral; p_i é o efeito da população i , com $i = 1, 2, \dots, a$; $f_{j(i)}$ é o efeito da família j , dentro da população i , com $j = 1, 2, \dots, b_i$; $g_{k(i,j)}$ é o efeito do indivíduo k dentro da família j e da população i , com $K = 1, 2, \dots, c_{ij}$; $h_{l(i,j,k)}$ é o efeito do gene l dentro do indivíduo k , na família j ; da população i , com $l = 1, 2, \dots, n_{ijk}$.

Na Tabela 3 são representadas as fontes de

variação e as esperanças dos quadrados médios, referentes ao modelo hierárquico desbalanceado.

TABELA 3. Esquema de análise de variância do modelo hierárquico desbalanceado (WEIR, 1990), para um alelo de um dado loco, tendo como fonte de variação: populações (P), famílias (F/P), indivíduos (I/F/P) e genes (G/I/F/P).

FV	GL	QM ⁽¹⁾	E(QM) ⁽²⁾
Populações	a-1	QM _P	$\sigma_o^2 + 2\sigma_I^2 + K_2 \sigma_F^2 + K_3 \sigma_P^2$
Famílias	$\sum_{i=1}^a b_i - a$	QM _F	$\sigma_o^2 + 2\sigma_I^2 + K_1 \sigma_F^2$
Indivíduos	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} c_{ij} - \sum_{i=1}^a b_i$	QM _I	$\sigma_o^2 + 2\sigma_I^2$
Genes	$n - \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} c_{ij}$	QM _O	σ_o^2

(1) e (2) vide apêndice, sendo que: K_1 , K_2 e K_3 foram calculados, baseando-se em ANDERSON & BANCROFT (1952) e SNEDECOR (1956).

Segundo VENCovsky (1992), a análise de cada frequência alélica ($x = 1$ se o alelo é A_1 e $x = 0$ se ele não é A_1) obedece o esquema de análise de variância proposto por WEIR (1990), conforme exposto na Tabela 4. Portanto, a variância total da frequência (p de A_1) do alelo analisado fica sendo a seguinte:

$$\hat{G}_T^2 = \hat{G}_P^2 + \hat{G}_F^2 + \hat{G}_I^2 + \hat{G}_G^2 = p(1-p) \quad (12)$$

Deste modelo ainda são possíveis de se obter as seguintes relações paramétricas:

$$\hat{G}_P^2 = p(1-p) (\hat{\theta}_2) \quad (13)$$

$$\hat{G}_F^2 = p(1-p) (\hat{\theta}_1 - \hat{\theta}_2) \quad (14)$$

$$\hat{G}_I^2 = p(1-p) (\hat{F} - \hat{\theta}_1) \quad (15)$$

$$\hat{G}_G^2 = p(1-p) (1 - \hat{F}) \quad (16)$$

onde: $\hat{\theta}_2$: é uma medida do grau de associação ou correlação das frequências gênicas dentro das populações; sendo também uma medida que quantifica a distância genética entre as populações estudadas; $\hat{\theta}_1$ é o coeficiente de coancestralidade, refere-se a quanto os gens estão correlacionados dentro das famílias; $\hat{F}$ é o coeficiente de endocruzamento de Wright, abrangendo a espécie como um todo. Este último coeficiente permite o cálculo de $\hat{f}$ que é o coeficiente de endocruzamento dentro das populações; e de $\hat{t}$ que é a taxa de fertilização cruzada da espécie, para cada alelo

$$\hat{\theta}_1 = \frac{\hat{G}_P^2 + \hat{G}_F^2}{\hat{G}_T^2} \quad (17)$$

$$\hat{\theta}_2 = \frac{\hat{G}_P^2}{\hat{G}_T^2} \quad (18)$$

$$\hat{F} = 1 - \frac{\hat{G}_G^2}{\hat{G}_T^2} \quad (19)$$

$$\hat{f} = (\hat{F} - \hat{\theta}_2)/(1 - \hat{\theta}_2) \quad (20)$$

$$\hat{t} = (1 - \hat{f})/(1 + \hat{f}) \quad (21)$$

Uma análise conjunta envolvendo todos os alelos de cada um dos locos, permite que se calcule as estimativas para os parâmetros: $\hat{F}$, $\hat{\theta}_1$, $\hat{\theta}_2$, $\hat{f}$ e $\hat{t}$ a partir da média dos quadrados médios:

$$\overline{QM}_P = (\sum SQ_P)/(\sum GL_P) \quad (22)$$

$$\overline{QM}_F = (\sum SQ_F)/(\sum GL_F) \quad (23)$$

$$\overline{QM}_I = (\sum SQ_I)/(\sum GL_I) \quad (24)$$

$$\overline{QM}_O = (\sum SQ_O)/(\sum GL_O) \quad (25)$$

3.2.2.2. Medição da variabilidade genética

Para a estimativa de parâmetros que medem a variabilidade genética, com a perda da estrutura de família por população, foi utilizado o programa de computador BIOSYS - 1 (SWOFFORD, 1989). Este programa fornece as estimativas das frequências gênicas, medidas da variabilidade genética, testa, através da análise de qui-quadrado, os desvios das frequências genotípicas em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, calcula os índices de fixação de WRIGHT (1965, 1978), testa a heterogeneidade entre as frequências observada e esperada dos alelos nas populações e o cálculo

de distâncias genéticas entre populações, como a de NEI (1972).

As medidas de variabilidade genética são expressas em função do número médio de alelos/loco (A); da proporção de locos polimórficos (P), sendo que um loco era considerado polimórfico, quando a frequência do alelo mais comum não ultrapassava a 0,95; e por último em termos da heterozigosidade (H), calculada conforme (BROWN & WEIR, 1983), para um determinado loco:

$$\hat{H} = 1 - \sum_i \hat{P}_{ii} \quad (26)$$

sendo: $\hat{P}_{ii}$ a frequência de homozigotos para o i -ésimo alelo.

A heterozigosidade média ($\bar{H}$) é calculada conforme NEI (1975), considerando no cálculo todos os locos analisados.

Uma descrição mais pormenorizada da estimativa dos parâmetros calculados pelo BIOSYS - 1 e as medidas da diversidade genética dos parâmetros de WRIGHT (1965, 1978) e NEI (1972, 1973), assim como as estimativas da variância do erro para o índice de fixação ($\hat{F}$) e a taxa aparente de fertilização cruzada ($\hat{t}$) é dada por PAIVA (1992).

3.2.3. Determinação da variação genética entre e dentro de populações, através da análise dos caracteres quantitativos e das isoenzimas

Os parâmetros de variabilidade entre e dentro de populações, comparando as informações obtidas por dados de eletroforese com os de quantitativa, foram feitos conforme os trabalhos de HAMRICK (1976) e HAMRICK (1983). A variabilidade dentro de populações é dada como sendo: $\left[\hat{G}_F^2 / \hat{V}_G + \hat{G}_D^2 / \hat{V}_G \right]$, «10», obtida para uma característica quantitativa, que é então comparável a relação: $1 - \hat{G}_{ST}$, «27», que representa a variabilidade dentro de populações obtida por dados de frequência gênica, de um dado loco. A variabilidade entre populações é dada pelo parâmetro: $\hat{G}_{ST} = \hat{D}_{ST} / \hat{H}_T$, «28», onde o $\hat{G}_{ST}$ representa a relação entre a diversidade genética entre populações ($\hat{D}_{ST}$) e a total ($\hat{H}_T$). Portanto, o $\hat{G}_{ST}$ é calculado com base nas frequências gênicas. Este parâmetro é comparável, então, à relação $\hat{G}_P^2 / \hat{V}_G$, «9», que representa a variância entre populações ($\hat{G}_P^2$) em relação a total ($\hat{V}_G$), «9», obtidas para uma característica quantitativa analisada no esquema hierárquico, envolvendo as duas populações. Estes índices também são comparáveis ao índice " $\hat{\theta}_2$ " de WEIR (1990), à distância genética "D" de NEI (1972) e ao " $\hat{F}_{ST}$ " de WRIGHT (1965, 1978), onde:

$$\hat{F}_{ST} = \frac{\sum_i G_i^2}{\sum_i \bar{p}_i (1 - \bar{p}_i)} \quad (29a); \quad \hat{F}_{ST} = \frac{(\hat{F}_{IT} - \hat{F}_{IS})}{(1 - \hat{F}_{IS})} \quad (29b)$$

sendo: $\hat{F}_{ST}$ uma medida de diferenciação entre populações; G_i^2 para cada alelo = $\bar{p}_i^2 - \bar{p}_i^2$; onde: $\bar{p}_i^2$ é a média ponderada da frequência alélica ao quadrado em cada população; $\bar{p}_i^2$ é a frequência média de um alelo/loco, nas populações estudadas; $\hat{F}_{IT}$ é o coeficiente de endocruzamento para espécie como um todo; $\hat{F}_{IS}$ é o coeficiente de endocruzamento dentro das populações.

NEI (1977) define os índices de fixação de WRIGHT (1965) em função da heterozigosidade observada e esperada. Portanto, o valor de $\hat{F}_{ST}$ também pode ser expresso da seguinte maneira:

$$\hat{F}_{ST} = \frac{(\bar{H}_T - \bar{H}_S)}{\bar{H}_T} \quad (29c)$$

onde:

$$\hat{F}_{IT} = \frac{(\bar{H}_T - \bar{H}_O)}{\bar{H}_T} \quad (30)$$

$$\hat{F}_{IS} = \frac{(\bar{H}_S - \bar{H}_O)}{\bar{H}_S} \quad (31)$$

sendo: $\bar{H}_O$ a heterozigosidade média observada dentro das populações, para todos os locos; $\bar{H}_S$ a heterozigosidade média esperada dentro das populações, para todos os locos (= diversidade genética dentro de populações, Tabela 10);

$\bar{H}_T$ a heterozigosidade média esperada no total das populações, para todos os locos (= diversidade genética total, Tabela 10).

Com a estimativa destes parâmetros, torna-se possível verificar qual é o nível de divergência genética entre as populações, tanto por dados fornecidos pela técnica da eletroforese, como pelo estudo de características quantitativas. É claro que dados de média, envolvendo uma análise de várias características quantitativas e de diversos alelos de locos isoenzimáticos, dão a estas comparações uma maior precisão.

A obtenção da distribuição da variação genética entre e dentro de populações foi feita obtendo-se uma média dos caracteres quantitativos estudados para as relações: $\hat{G}_P^2/\hat{V}_G$, (8), e $\left[\hat{G}_F^2/\hat{V}_G + \hat{G}_D^2/\hat{V}_G\right]$, (10). Estes resultados foram comparados com os parâmetros: $\bar{F}_{ST}$, $\bar{G}_{ST}$, $\hat{\theta}_2$ (obtido na análise conjunta) e a distância genética (D) de NEI (1972) que medem, por diferentes metodologias, a divergência genética entre populações, com base nas frequências gênicas dos locos estudados, pela técnica da eletroforese. Como estes quatro parâmetros são números puros, foi obtida uma média entre eles e confrontada com a dos caracteres quantitativos. Deste modo, foi realizada a comparação entre as duas metodologias principais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Desenvolvimento do protocolo de alguns sistemas enzimáticos para *Myracrodruon urundeuva*

O procedimento adotado para se encontrar os melhores tampões de cuba e do gel, para cada um dos sistemas enzimáticos estudados, foi o de testar modificações nestes tampões, tendo como base aqueles citados por YAMADA & GURIES (1989). Estes autores citam 5 tampões de cuba e do gel, denominados por: "AC", "RW", "HC", "TC" e "SB". O Tampão "HC" não foi utilizado, em seu lugar testou-se o "H" de CHELIAK & PITEL (1984). Este sistema "HC" equivale ao "4" de WENDEL & WEEDEN (1989) e "16" de ALFENAS et alii (1991).

A seguir é feita uma descrição das modificações feitas nos tampões de cuba e do gel a partir de YAMADA & GURIES (1989) e uma comparação dos mesmos com outros tampões citados na literatura:

I. Tampão "AC"

a. tampão da cuba

0,04 M ácido cítrico, pH = 6,1 titulado com
N-(3 - aminopropil) morfolina.

b. tampão do gel (diluição do tampão da cuba 1:19)

pH = 7,1 titulado com N-(3-aminopropil) morfolina

c. constituição do gel, para um volume de 160 ml

- 12% de amido "Sigma" - 19,2g

- 160 ml do tampão do gel "AC"

d. condições de corrida:

A fonte utilizada trabalhou com voltagem constante, portanto iniciava-se uma com uma voltagem igual a 200V, o que correspondia a uma miliamperagem em torno de 17mA, com a retirada dos "wicks" (pedaços de papel Whatman 1,00 x 0,60cm), após 30 minutos, passava-se a voltagem para 300V, pois com voltagem constante a tendência é a diminuição da miliamperagem, o que prolonga o tempo de corrida. Portanto, este aumento proporcionava uma miliamperagem maior.

Em relação ao tampão do gel proposto por YAMADA & GURIES (1989) foram feitas modificações de pH e na diluição do tampão. Este tampão corresponde aos tampões (com ligeiras modificações): "2" de WENDEL & WEEDEN (1989); "5" e "6" de ALFENAS et alii (1991); "D" de CONKLE et alii (1982); "A" de PITEL & CHELIAK (1984) e "AC" de MARTY et alii (1984).

II. Tampão "RW"

a. tampão de cuba

- 0,3M ácido bórico, titulado com 0,06M de hidróxido de lítio, para pH = 8,1

b. tampão do gel

- 0,03M Tris
- 0,005M ácido cítrico
- 1% do tampão da cuba
- pH = 8,5; titular com Tris 1M ou ácido cítrico 1M

c. constituição do gel, para um volume de 160 ml

- 12% amido "Sigma" - 19,2g
- 160 ml do tampão do gel "RW"

d. condições de corrida

A voltagem inicial é de 250V, passando-se para 300V, depois de 30 minutos, quando da retirada dos "wicks".

Este tampão "RW" de YAMADA & GURIES (1989) corresponde aos tampões de (com algumas modificações no pH e/ou nas concentrações dos reagentes, em alguns casos): "RW" de MARTY et alii (1984); "A" e "B" de SCANDALIOUS (1969); "A" de CONKLE et alii (1982); "B" de PITEL & CHELIAK (1984); "B" de CHELIAK & PITEL (1984); "6" de WENDEL & WEEKEN (1989); "11" e "14" de ALFENAS et alii (1991) e o "LiOH-8,3" de PASTEUR et alii (1987).

III. Tampão "TC"

a. tampão da cuba

- 0,135M Tris
- 0,043 ácido cítrico
- pH = 7,0; titulado com Tris 1M ou ácido cítrico 1M

b. tampão do gel (diluição de 1:14 do tampão da cuba)

- pH = 7,5; titulado com Tris 1M ou ácido cítrico 1M

c. constituição do gel, para um volume de 160 ml

- 12% amido "Sigma"
- 160 ml do tampão do gel "TC"

d. condições de corrida: voltagem constante igual a 200V, mesmo após a retirada dos "wicks".

Em relação ao Tampão TC proposto por YAMADA & GURIES (1989) houve alteração no pH do tampão da cuba, na concentração do Tris e do ácido cítrico, como também na diluição do tampão da cuba para a formação do tampão do gel. Este tampão assemelha-se aos citados por: "C" de CONKLE et alii (1982); "C" de PITEL & CHELIAK (1984); "3" de WENDEL & WEEDEN (1989); "B" de SCANDALIOUS (1969); "I", "V", "XII", "XIII" de SHAW & PRASAD (1970); "3", "4", "7", "8" de ALFENAS et alii (1991) e "T.C.-6,7", "T.C.-8,0" de PASTEUR et alii (1987).

IV. Tampão "SB"

a. tampão da cuba

- 0,1M hidróxido de sódio
- 0,30M ácido bórico
- pH = 8,5

b. tampão do gel

- 0,015M Tris
- 0,004M ácido cítrico
- pH = 7,8

c. constituição do gel, para um volume de 160 ml

- tampão do gel "SB" - 160 ml

- 12% amido "Sigma" - 19,2 g

d. condições de corrida: voltagem constante igual a 200V; durante toda a corrida, mesmo após a retirada dos "wicks".

Este tampão assemelha-se aos citados por: "5" de WENDEL & WEEKEN (1989); "B" de CONKLE et alii (1982); "BORATE-8,2" de PASTEUR et alii (1987) e "9", "10", "12", "13" de ALFENAS et alii (1991).

V. Tampão "H"

a. tampão da cuba

- 0,125M Tris

- pH = 7,0; titular com ácido cítrico 1M

b. tampão do gel

- 0,05M histidina-HCl

- 0,0014M EDTA

- pH = 7,0; titular com Tris 1M

c. constituição do gel, para um volume de 160 ml

- tampão do gel "H" diluído 3:1 (40ml do tampão do gel "H" + 120ml de H₂O)

- 12% amido - 19,2g

d. condições de corrida: voltagem constante igual a 200V, durante toda a corrida, mesmo após a retirada dos "Wicks".

Este tampão assemelha-se aos citados por: "H" de PITEL & CHELIAK (1984); "TH6" e "TH8" de LEBRUN &

CHEVALLIER (1988); "15" de ALFENAS et alii (1991).

O padrão de bandas dos sistemas de coloração estudados é apresentado na Tabela 4, seguindo-se uma discussão a respeito do comportamento de cada sistema enzimático, em relação aos sistemas de Tampões de cuba e gel "AC", "RW", "TC", "SB" e "H", descritos anteriormente.

Dos 18 sistemas enzimáticos testados três, apresentaram um padrão de bandas bem definido: ADH ("AC"), IDH ("TC") e 6PGD ("AC"); outros sistemas como: MDH ("TC"), AAT ("AC", "RW" e "TC"), LAP ("AC", "TC" e "H"), PGM ("AC" e "SB"), PGI ("AC" e "TC"), ACP ("RW" e "SB") e β -EST ("RW" e "SB") embora apresentassem pequenas distorções também poderiam ser utilizados em estudos genéticos. Quanto aos demais: ALD, G2D, GDH, GPD, ME, G6PD, SKDH e α -EST necessitariam de mais testes para apresentarem um melhor padrão de resolução. Portanto, dos sistemas trabalhados têm-se 10 sistemas que poderiam fornecer informações sobre a estrutura genética de populações de aroeira.

TABELA 4. Sistemas enzimáticos utilizados em folhas cotiledonares de aroeira em diferentes tampões de cuba e do gel, com os respectivos padrões de bandas⁽¹⁾.

SISTEMA ENZIMÁTICO	Sistema de Tampão				
	AC	RW	TC	SB	H
ADH	o	-	+++	-	-
ALD	+++	+	-	-	N
G2D=G2DH	-	+++	-	-	N
GDH	++	+++	-	+++	N
GPD=G3PDH	++	N	+	N	N
MDH	+	+	*	+	-
ME	-	-	++	-	+
IDH=ICD	+++	N	o	N	N
GOT=AAT	*	*	*	+	+++
LAP	*	+	*	-	*
G6PD=G6PDH=G6P	+++	+	+	-	N
PGM	*	+	+++	*	N
PGI-GPI	*	N	*	N	N
SKD=SKDH	+++	++	++	+	+
6PGD=6PGDH=6PG	o	*	*	++	++
ACP	-	*	++	*	++
α -EST	-	+++	+++	+++	+++
β -EST	++	*	-	*	+

(1) Padrão de bandas: (N) a enzima não foi testada neste tampão; (-) ausência de bandas; (+) padrão de bandas não definido e com rastros; (++) padrão de bandas não definido, mas com sombras; (+++) padrão de bandas definido, mas fracos ou com pequenas distorções; (*) padrão de bandas definido, mas com sombras ou com pequenas distorções; (o) padrão de bandas definido.

4.2. Resultados e parâmetros genéticos obtidos das análises eletroforéticas

Nas Figuras 1, 2, 3 e 4 (ver apêndice) são apresentados os zimogramas dos padrões eletroforéticos, representando os nove alelos e três locos (IDH, AAT-1, LAP-2), com os seus respectivos R_m s obtidos das folhas cotiledonares, nas duas populações de aroeira estudadas. A estimativa das frequências gênicas, para cada alelo dentro do loco, são apresentadas na Tabela 5 e a análise do qui-quadrado dentro de cada população, é apresentada na Tabela 6.

O sistema enzimático IDH apresentou apenas uma zona de atividade eletroforética e a enzima foi considerada dimérica, apresentando apenas dois alelos, sendo que o mais lento não apareceu na população B e com uma frequência muito baixa na população S. Quanto ao sistema enzimático AAT, este apresentou duas regiões de atividade enzimática; porém, no sistema de tampões de cuba e do gel utilizado, apenas a região mais anódica (AAT-1) é que permitiu a distinção de três alelos, sendo que essa enzima foi considerada monomérica. O alelo 1 foi mais frequente na população S e os alelos 2 e 3 apareceram mais na população B. Algo semelhante ocorreu em relação ao sistema enzimático LAP, apresentando duas regiões de atividade enzimática, nos sistemas de tampões de gel e da cuba utilizado; porém neste caso o loco que permitiu a identificação de alelos foi o LAP-2, que é a

região menos anódica. Esta enzima foi considerada monomérica e houve a identificação de quatro alelos, sendo que o primeiro foi mais frequente na população S e os demais alelos na população B.

TABELA 5. Frequência dos alelos nos três locos e o número de indivíduos/loco (N), identificados por eletroforese, em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS	POPULAÇÕES	Frequência do alelo				N
		1	2	3	4	
IDH	B	1,0000	0,0000	-	-	402
	S	0,9799	0,0201	-	-	398
	$\bar{X}$	0,9900	0,0100	-	-	
AAT-1	B	0,6923	0,2277	0,0800	-	481
	S	0,8540	0,0841	0,0619	-	517
	$\bar{X}$	0,7761	0,1533	0,0706	-	
LAP-2	B	0,5114	0,3357	0,1457	0,0072	484
	S	0,7326	0,1589	0,0969	0,0116	516
	$\bar{X}$	0,6255	0,2445	0,1205	0,0095	

(-): indica ausência do alelo naquele loco.

A estrutura enzimática dimérica da IDH e a monomérica da LAP estão de acordo com as citações de KEPHART (1990), onde é feita uma análise de diferentes estudos enzimáticos em plantas nos laboratórios dos Estados Unidos; porém, para a AAT é citado que a sua estrutura é dimérica. Deve-se ressaltar, no entanto, que quando se estuda o mesmo sistema enzimático, para diferentes plantas, ele nem sempre

apresenta o mesmo número de locos e alelos, portanto, conforme o loco estudado, em um sistema enzimático, pode se encontrar estruturas diferentes para cada loco, como é apresentado por KEPHART (1990) para outros sistemas enzimáticos (ACP, DIA, EST/FEST, PRX = PER, SOD).

TABELA 6. Qui-quadrado para os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg considerando o número observado (N_o) e esperado (N_e) de nove alelos e três locos, identificados por eletroforese em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS	CLAS. ⁽¹⁾	População B			População S		
		N_o	N_e	χ^2	N_o	N_e	χ^2
IDH*	A	-	-		-	-	
	B	-	-		-	-	
	C	-	-	-	-	-	-
AAT-1	A	310	230,4		436	377,0	
	B	46	205,1		11	129,1	
	C	125	45,4		70	11,0	
				290,5**			433,7**
LAP-2	A	181	126,4		282	276,8	
	B	133	242,1		192	202,4	
	C	170	115,4		42	36,8	
				98,6**			1,4 ^{ns}

⁽¹⁾ A - n.º de homozigotos para o alelo mais comum;
 B - n.º de heterozigotos entre os alelos comum/raro;
 C - n.º de homozigotos raros e outros heterozigotos.

* loco monomórfico não foi realizada a análise do χ^2

Pela análise do qui-quadrado dentro das populações para cada loco polimórfico (Tabela 6) verifica-se que apenas o LAP-2, na população S, as frequências

genotípicas estão de acordo com equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo que para o AAT-1, nas duas populações e o LAP-2, na população B, há desvios das frequências genotípicas em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg. SCHAAP (1980) chama a atenção para o fato de que uma população que está fora deste equilíbrio pode estar sofrendo um processo de deriva genética e não de uma seleção direcional e, que esses estudos devem ser feitos com base em amostragem ao longo do tempo.

Dos nove alelos analisados em três locos somente um apareceu em apenas uma população. Por outro lado, para os dois locos polimórficos, nas duas populações estudadas em três das quatro situações (populações x classes genotípicas) houve desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que demonstra estágio de perturbação em que as populações estudadas se encontram.

4.2.1. Análises de variâncias individuais e conjuntas para cada alelo

A análise de variância em esquema hierárquico desbalanceado, seguiu a metodologia proposta por WEIR (1990), para cada um dos alelos identificados por eletroforese. Dos sistemas enzimáticos testados, em apenas três conseguiu-se um padrão de resolução que permitisse a identificação de locos e alelos, em um mesmo sistema de tampão de cuba e do gel.

Nas Tabelas A2, A3, A4, A5, A6 e A7 (ver

apêndice) são apresentados os resultados relativos aos quadrados médios para cada um dos alelos por loco; os quadrados médios da análise conjunta; os valores de K_1 , K_2 e K_3 , para cada um dos locos e da análise conjunta, envolvendo alelos e locos. São incluídas também as estimativas da variância entre populações ($\hat{\sigma}_p^2$), entre famílias/populações ($\hat{\sigma}_f^2$), entre indivíduos/famílias/populações ($\hat{\sigma}_i^2$) e a entre genes/ indivíduos/ famílias/ populações ($\hat{\sigma}_g^2$) e a variância genética total ($\hat{\sigma}_t^2$), tanto para as análises individuais de cada alelo, como para a conjunta, envolvendo todos os alelos. Deve-se ressaltar que o loco IDH foi considerado monomórfico e os outros dois locos, LAP-2 e AAT-1, polimórficos. Portanto, nas análises conjuntas realizadas não se levou em consideração os valores do loco monomórfico IDH.

Os resultados anteriores permitiram o cálculo dos valores de $\hat{F}$, $\hat{f}$, $\hat{\theta}_1$, $\hat{\theta}_2$ e $\hat{t}$, cujos significado já foi descrito anteriormente, baseando-se em VENCOSKY (1992). Os valores estimados para estes parâmetros são apresentados na Tabela 7.

Para espécies reconhecidamente dióicas tal como *M. urundeuva*, a taxa de cruzamento ($\hat{t}$) é igual a 1, sendo que o valor estimado pela metodologia de WEIR (1990), neste caso, é somente uma referência relativa à endogamia da população.

A grande vantagem da metodologia de WEIR (1990) é a de que os valores de todas estas estimativas

variam de 0 a 1, sendo facilmente comparáveis. E o que se verificou foram altos valores de $\hat{F}$ para a espécie (0,52) e para as populações ($\hat{f} = 0,4952$), uma baixa taxa de cruzamento ($\hat{t} = 0,3376$), pequena divergência genética entre as populações ($\hat{\theta}_2 = 0,0491$) e um coeficiente de coancestralidade ($\hat{\theta}_1 = 0,2957$) sugerindo que a espécie pode apresentar cruzamentos entre indivíduos aparentados. Os resultados apresentados referem-se a análise conjunta dos locos polimórficos. Ao nível dos alelos estudados verifica-se uma certa variação para os resultados em todos os parâmetros estimados.

A metodologia de WEIR (1990) é recente, não existindo na literatura resultados que possam ser comparados com os obtidos neste trabalho, para aroeira. Porém, um dos trabalhos pioneiros no uso desta metodologia foi com duas populações nativas de seringueira (*Hevea brasiliensis* - Euphorbiaceae) provenientes do Estado do Acre, realizado por PAIVA (1992). Neste estudo o autor trabalhou com quatro locos polimórficos e 17 alelos, encontrando uma baixa divergência genética entre as populações ($\hat{\theta}_2 = 0,0025$), uma maior taxa de fertilização cruzada ($\hat{t} = 0,6446$) e menores valores de coeficientes de endogamia, para a espécie ($\hat{F} = 0,2181$) e para as populações ($\hat{f} = 0,2161$), do que aqueles encontrados para as populações de aroeira. No caso da seringueira o coeficiente de coancestralidade ($\hat{\theta}_1 = 0,1270$) caracterizou as famílias como meias-irmãs.

TABELA 7. Estimativas dos coeficientes de endogamia das plantas nas populações ($\hat{F}$) e dentro das populações ($\hat{f}$), do parentesco dentro das famílias ($\hat{\theta}_1$), da distância genética entre populações ($\hat{\theta}_2$), das taxas aparentes de fertilização cruzada ($\hat{t}$), calculados conforme WEIR (1990), para nove alelos em três locos, em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS/ ALELOS	$\hat{F}$	$\hat{f}$	$\hat{\theta}_1$	$\hat{\theta}_2$	$\hat{t}$
IDH					
1	0,7500	0,7459	0,0643	0,0161	0,1455
2	0,7500	0,7459	0,0643	0,0161	0,1455
AAT-1					
1	0,8416	0,8314	0,3271	0,0606	0,0921
2	0,6213	0,5954	0,2655	0,0640	0,2536
3	0,6590	0,6590	0,1740	0,0000	0,2056
LAP-2					
1	0,3407	0,2758	0,3143	0,0897	0,5676
2	0,4780	0,4394	0,3595	0,0690	0,3895
3	0,3296	0,3296	0,2824	0,0000	0,5042
4	0,0995	0,0995	0,0684	0,0000	0,8190
ANAVA CONJ. (*)	0,5200	0,4952	0,2957	0,0491	0,3376

(*) o alelo monomórfico IDH não foi considerado na anava conjunta.

Os resultados obtidos para aroeira mostram, no geral, parâmetros diferentes daqueles obtidos para outras espécies arbóreas tropicais, principalmente no que se refere ao coeficiente de endogamia e a taxa aparente de fertilização cruzada.

4.2.2. Análise da variabilidade genética a partir das frequências gênicas dos alelos e locos identificados por eletroforese

a. Variabilidade genética ao nível de populações

Baseando-se em PAIVA (1992) foram calculados o coeficiente de endogamia ao nível de populações de espécie ($\hat{F}$) e a taxa aparente de fertilização cruzada ($\hat{t}$), assim como os seus respectivos desvios padrões, a partir das frequências esperadas ($\hat{H}_e$) e observadas ($\hat{H}_o$) de heterozigotos, sendo que estes dados são apresentados na Tabela 8. Deve-se ressaltar que esta é a metodologia mais comum na literatura possibilitando maiores comparações. Verifica-se que, por esta metodologia os valores médios do coeficiente de endogamia ($\bar{\hat{F}} = 0,5125$) e da taxa aparente de fertilização cruzada ($\bar{\hat{t}} = 0,4875$) não diferiram muito daquelas valores encontrados na Tabela 7, para estes mesmos parâmetros, o que reforça a idéia de um alto coeficiente de endogamia e uma baixa taxa aparente de fertilização cruzada para a aroeira.

Em relação aos valores de $\hat{F}$ e $\hat{t}$ ao nível de locos, constatou-se que o IDH e o AAT-1 mostraram valores de $\hat{F}$ superiores ao LAP-2; conseqüentemente apresentaram uma decorrente menor taxa aparente de fertilização cruzada ($\hat{t}$). Ao nível de populações constatou-se o maior coeficiente de endogamia médio ($\bar{\hat{F}}$) para a população B, comparativamente à

TABELA 8. Estimativas dos coeficientes de endogamia ($\hat{F}$), taxa aparente de fertilização cruzada ($\hat{t}$) calculados a partir das frequências esperadas ($\hat{H}_e$) e observadas ($\hat{H}_o$) de heterozigotos, para três locos identificados por eletroforese, em duas populações naturais de aroeira.

POPU- LACÃO	PARÂ- METRO	LOCOS			MÉDIA
		IDH	AAT-1	LAP-2	
B	$\hat{H}_e$	0,0000	0,4625	0,6045	-
	$\hat{H}_o$	0,0000	0,1143	0,3058	-
	$\hat{F}$	-	0,7529	0,4941	0,6063
		(-) (**)	(0,0316)*	(0,0346)	-
	$\hat{t}$	-	0,1410	0,3386	0,2451
		(-)	(0,0200)	(0,0300)	-
S	$\hat{H}_e$	0,0394	0,2598	0,4285	-
	$\hat{H}_o$	0,0101	0,0909	0,3779	-
	$\hat{F}$	0,7437	0,6501	0,1181	0,3419
		(0,1229)	(0,0360)	(0,0412)	-
	$\hat{t}$	0,1470	0,2120	0,7888	0,4904
		(0,0806)	(0,0264)	(0,0648)	-
MÉDIA	$\hat{H}_e$	0,0198	0,3693	0,5344	-
	$\hat{H}_o$	0,0050	0,1022	0,3430	-
	$\hat{F}$	0,7475	0,7233	0,3582	0,5125
		(0,1221)	(0,0245)	(0,0264)	-
	$\hat{t}$	0,1445	0,1606	0,4726	0,4875
		(0,0800)	(0,0173)	(0,0300)	-

(*): Valores entre parênteses correspondem aos desvios padrões das estimativas calculadas conforme PAIVA (1992); (**): não foi possível estimar devido $\hat{H}_o$ e $\hat{H}_e$ serem zero.

população S; ocorrendo o inverso para a taxa aparente de fertilização cruzada média ($\bar{t}$).

Resultados da literatura, para espécies arbóreas tropicais, como os de O'MALLEY et alii (1988) para a castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* - Lecythidaceae) apresentaram baixos valores para o coeficiente de endogamia e altas taxas de fertilização cruzada ($\bar{t} = 0,849$). O mesmo ocorreu em relação aos estudos realizados por O'MALLEY & BAWA (1987) em *Pithecellobium pedicellare* (Mimosoideae), que encontraram altas taxas de fertilização cruzada para esta espécie ($\bar{t} = 0,951$), mesmo sendo uma espécie que ocorre em baixas densidades em florestas primárias. A endogamia neste caso, segundo os autores, é diminuída pelo fato da espécie apresentar: auto-incompatibilidade, ter um mecanismo efetivo de fluxo gênico e uma seleção contra progênies endogâmicas. PAIVA (1992) trabalhou com seringueira (*Hevea brasiliensis*) encontrou valores de $\bar{t} = 0,6415$ e $\bar{F} = 0,2184$. MUONA (1990), citando vários trabalhos realizados com espécies arbóreas temperadas e tropicais, relata valores de "t" que variaram de 0,65 a 0,99. Portanto, o que se observa é que há uma tendência das espécies tropicais arbóreas apresentarem altos valores de $\bar{t}$ e baixos para os de $\bar{F}$, o que já não ocorreu com as populações estudadas de aroeira.

Sendo a aroeira uma espécie dióica (SANTIN, 1989) esperava-se encontrar valores de "t" altos, semelhantes aos obtidos para outras espécies arbóreas tropicais. Porém, como os valores de "t" estão em função de

"F", o problema pode estar no coeficiente de endogamia das populações estudadas. Uma possibilidade seria a existência de parentesco entre os indivíduos dentro das populações estudadas. Esta hipótese é reforçada pelos valores de $\hat{\theta}_1$ encontrados (Tabela 7). Isto será mais discutido posteriormente.

Um outro aspecto a ser abordado neste item se refere a variabilidade genética para os três locos estudados (Tabela 9), em termos de número médio de alelos por loco (A), pela porcentagem de locos polimórficos (P), e da heterozigosidade média observada (H_o) e esperada (H_e). Embora o número de alelos e locos analisados tenha sido pequeno, observa-se que as duas populações apresentam, praticamente, o mesmo número de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (A) e porcentagem de locos polimórficos (P). Porém, os valores de heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) não se apresentam na mesma ordem, para as duas populações, o que se reflete nos valores de F , onde para a população B ele é de 0,6063 e para a população S é de 0,3419. Isto implica que, em termos de populações isoladas, a de Bauru (B) é muito mais endogâmica que a de Selvíria (S).

Estudos realizados por HAMRICK & LOVELESS (1986) em 29 espécies na Ilha de Barro Colorado no Panamá, onde se analisou em média 15,9 sistemas enzimáticos por espécie, foram encontrados uma média geral igual a 27,6% de locos polimórficos e um número de alelos por loco (A) igual

TABELA 9. Variabilidade genética em duas populações naturais de aroeira, avaliadas pelo tamanho médio da amostra por loco ($\bar{N}$), pelo número médio de alelos por loco (A), pela porcentagem de locos polimórficos (P) e pela heterozigosidade média observada (H_o) e esperada (H_e).

População	$\bar{N}$	A	P ⁽¹⁾	H_o ⁽²⁾	H_e
B	455,7	2,7	66,7	0,140 (0,089)	0,356 (0,183)
S	477,0	3,0	66,7	0,160 (0,112)	0,243 (0,113)

(1) Um loco é considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não exceder a 0,95; (2) valores entre parênteses correspondem aos desvios padrões, fornecidos pelo BIOSYS-1.

a 1,45, com uma heterozigosidade média ($\bar{H}$) que variou de 0,000 a 0,216, com média igual a 0,111. A heterozigosidade observada nas duas populações de aroeira ficaram próximas das obtidas por HAMRICK & LOVELESS (1986), muito embora a porcentagem de locos polimórficos e o número de alelos por loco foram bem maiores que os obtidos pelos referidos autores.

HAMRICK (1983), estudando 91 espécies tropicais e temperadas, fez entre elas, uma separação em

relação à sua história vital. Assim, uma espécie como a aroeira que apresenta uma ampla distribuição geográfica, se reproduz por sementes, é de fecundação cruzada e o polinizador é um animal, tendo pequeno alcance na dispersão de sementes e pertence ao bloco das espécies secundárias no processo sucessional, apresentam em média 3,24 alelos por loco, e uma porcentagem de locos polimórficos igual a 68,28%. HAMRICK & GODT (1990) ampliaram os estudos de HAMRICK (1983) encontrando para uma espécie de história vital semelhante a da aroeira uma média de 2,0 alelos por loco e uma porcentagem de locos polimórficos igual a 52,77%. Os resultados apresentados em ambos os estudos ficaram próximos daqueles encontrados para as duas populações de aroeira estudadas (Tabela 9).

O acúmulo destas informações, conforme colocam HAMRICK & LOVELESS (1986), é que poderá elucidar a dinâmica da biologia reprodutiva das espécies tropicais e, desta forma, se entender a estrutura genética das populações das espécies arbóreas tropicais. Deve-se ressaltar, também, que os dados obtidos por HAMRICK (1983) foram maiores do que os de HAMRICK & LOVELESS (1986), pois no primeiro trabalho foram incluídas também as espécies temperadas além das tropicais. Porém, foi citado nos dois trabalhos anteriores que as coníferas temperadas têm maior nível de variação isoenzimática nas suas populações, do que as espécies tropicais. Todavia, tanto as angiospermas temperadas como as tropicais apresentam o mesmo nível de variação.

LOVELESS & HAMRICK (1987), estudando várias espécies arbóreas tropicais, encontraram valores médios de 65,6% de locos polimórficos (P) e uma heterozigotidade média (H) de 0,240, sendo que o número médio de alelos por loco (A) foi de 2,02. Portanto, para os parâmetros estudados (A e P), houve uma coerência entre os resultados obtidos para a aroeira, comparativamente ao de outras espécies arbóreas tropicais, o que já não ocorreu com os parâmetros "F" e "t".

b. Diversidade genética entre e dentro de populações

As estimativas de diversidades genéticas total ($\hat{H}_T$), dentro de populações ($\hat{H}_S$) e a proporção da diversidade entre populações em relação a total (G_{ST}), conforme NEI (1973), são apresentadas na Tabela 10. Por estes parâmetros, fica claro que a maior variação genética está dentro das populações ($\hat{H}_S = 96,42\%$), considerando a média dos dois locos polimórficos, e a menor variação está entre as populações ($\hat{G}_{ST} = 3,58\%$). Isto demonstra que a maior parte da variação genética se encontra dentro das populações.

BUCKLEY et alii (1988), estudando duas populações de *Bertholletia excelsa*, bem distantes geograficamente, também encontraram resultados similares ao da aroeira, no que se refere a divergência genética entre as populações. Segundo os autores citados a pouca variação encontrada entre as duas populações de castanha do Brasil poderia ser explicada pelo fato das duas populações terem

TABELA 10. Diversidades genéticas: total (H_T), dentro de populações (H_S), e proporção da diversidade entre populações em relação a total (G_{ST}), para três locos identificados por eletroforese em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS	N*	H_T	H_S	G_{ST}
IDH	800	0,0198	0,0196	0,0101
AAT-1	998	0,3692	0,3575	0,0317
LAP-2	1000	0,5344	0,5137	0,0387
MÉDIA (**)	2798	0,4519	0,4357	0,0358

* – Número total de plantas analisadas nas duas populações

** – No cálculo da média não se considerou o loco monomórfico IDH.

sido originadas de um ancestral comum. PAIVA (1992) também encontrou uma maior variação dentro das populações ($\hat{H}_S = 99,86\%$). HAMRICK (1983) encontrou, para espécies com uma história vital semelhante à da aroeira, que 70,32% da variação genética estaria dentro da população e 29,68% entre populações. A baixa divergência genética entre as populações é confirmada por HAMRICK (1989), para espécies que são dióicas e tem histórias vitais semelhantes a da aroeira.

O índice de fixação ($\hat{F}_{IS(i)}$) calculado conforme WRIGHT (1978) que corresponde ao coeficiente de endogamia dentro da população, para cada alelo por loco, é apresentado na Tabela 11. Verifica-se, por exemplo,

comparando-se a média da população de Bauru com a de Selvíria, que a primeira apresentou valores de endogamia iguais a 15,85% e 318,64% superiores à segunda, para os locos AAT-1 e LAP-2, respectivamente, o que reforça a discussão feita a respeito dos dados obtidos na Tabela 8. Portanto, através de parâmetros diferentes, chegou-se a mesma conclusão a respeito da variação da endogamia entre as duas populações.

TABELA 11. Estimativas do índice de fixação ($\hat{F}_{IS(i)}$) dentro da população para cada alelo por loco em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS	POP.	A L E L O S				MÉDIA ^(*)
		1	2	3	4	
IDH	B			-	-	
	S	0,745	0,745	-	-	0,745
AAT-1	B	0,776	0,675	0,873	-	0,753
	S	0,915	0,410	0,400	-	0,650
LAP-2	B	0,450	0,597	0,411	0,281	0,494
	S	0,050	0,174	0,203	-0,012	0,118

(*) Corresponde ao índice de fixação médio ($\hat{F}$) de cada loco dentro da população, medindo o excesso (-) ou a carência (+) de heterozigotos.

As estimativas dos índices de fixação dentro da população ($\hat{F}_{IS}$), para a espécie ($\hat{F}_{IT}$) e a medida da diferenciação entre as populações ($\hat{F}_{ST}$) são apresentadas na

Tabela 12, para cada um dos locos e alelos estudados. Comparando-se os locos polimórficos, verifica-se que o AAT-1 apresenta um índice $\hat{F}_{IS}$ equivalente a 111,83% maior que o encontrado para o LAP-2. Em relação ao $\hat{F}_{IT}$ a superioridade é de 99,18%. Mas em ambos os locos os valores de $\hat{F}_{ST}$ foram próximos e baixos, indicando pouca diferenciação entre as populações estudadas para ambos os locos. Estes índices de

TABELA 12. Estimativas dos índices de fixação dentro da população ($\hat{F}_{IS}$), para a espécie ($\hat{F}_{IT}$) e medida da diferenciação entre populações ($\hat{F}_{ST}$), para cada alelo por loco em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS	$\hat{F}$	A L E L O S				MÉDIA
		1	2	3	4	
IDH	IS	0,745	0,745	—	—	0,745
	IT	0,747	0,747	—	—	0,747
	ST	0,010	0,010	—	—	0,010
AAT-1	IS	0,827	0,594	0,665	—	0,716
	IT	0,833	0,610	0,665	—	0,725
	ST	0,037	0,039	0,001	—	0,032
LAP-2	IS	0,274	0,438	0,325	0,101	0,338
	IT	0,312	0,462	0,329	0,101	0,364
	ST	0,052	0,042	0,006	0,001	0,038
CONJ. *	IS	—	—	—	—	0,449
	IT	—	—	—	—	0,517
	ST	—	—	—	—	0,035

* Média dos índices de fixação para todos os locos, com exceção do IDH que é o monomórfico.

Wright assemelham-se aos de Nei, valendo, portanto, a mesma discussão anterior.

Os altos valores de $\hat{F}_{IS}$ e $\hat{F}_{IT}$ encontrados indicam uma carência de heterozigotos em ambos os locos. Analisando-se estes parâmetros, para cada um dos alelos dentro dos locos estudados, verifica-se um comportamento diferencial para cada alelo, elevando ou diminuindo estes índices. O mesmo ocorre em relação ao estudo realizado por PAIVA (1992), porém, como este autor trabalhou com um número maior de locos e alelos, as diferenças nas médias dos dois parâmetros citados não foram tão grande.

É interessante salientar que diferentes parâmetros, calculados por outras tecnologias e autores, com o mesmo significado, apresentaram, no caso do presente trabalho, resultados muito similares, no que diz respeito aos altos coeficientes de endogamia e a conseqüente baixa taxa aparente de fertilização cruzada.

4.2.3. Comparação entre os resultados obtidos nas análises eletroforéticas

Uma comparação entre os resultados obtidos por diferentes métodos utilizados para a estimativa da variação genética entre e dentro de populações, por dados de eletroforese, é apresentada na Tabela 13. Nesta Tabela foi incluída a distância genética de NEI (D), que não foi discutida anteriormente.

Os parâmetros $\hat{F}_{ST}$, $\hat{G}_{ST}$, $\hat{\theta}_2$ e $\hat{D}$ medem a divergência genética entre as populações, por diferentes metodologias, sendo que todos eles apresentaram igualmente baixos valores, o que indica que as populações são bem próximas, do ponto de vista genético.

TABELA 13. Comparação entre os diferentes métodos, para a estimativa da variação genética entre e dentro de populações, considerando alelos e os locos identificados por eletroforese nas duas populações nativas de aroeira estudadas.

WRIGHT (1978)	WEIR (1990)	NEI (1973)	NEI (1972)
$\hat{F}_{ST} = 0,035$	$\hat{\theta}_2 = 0,049$	$\hat{G}_{ST} = 0,036$	$\hat{D} = 0,028$
$\hat{F}_{IT} = 0,517$	$\hat{F} = 0,520$	—	—
$\hat{F}_{IS} = 0,499$	$\hat{f} = 0,495$	—	—

$\hat{F}_{ST}$, $\hat{F}_{IT}$ e $\hat{F}_{IS}$: obtidos na média conjunta - Tabela 12; $\hat{\theta}_2$, $\hat{F}$ e $\hat{f}$: obtidos na anava conjunta - Tabela 7; $\hat{G}_{ST}$: obtida na Tabela 10; $\hat{D}$: fornecido pelo BIOSYS-1.

Os parâmetros de Wright ($\hat{F}_{IT}$ e $\hat{F}_{IS}$) e os de Weir ($\hat{F}$ e $\hat{f}$) indicam um valor expressivo de endogamia, tanto para a espécie como para as populações estudadas. Pelo fato da aroeira ser considerada uma espécie dióica só isto já a

identifica como alógama. No entanto, segundo KAGEYAMA & DIAS (1982), isso não implica que não possa haver acasalamento entre indivíduos aparentados, provocando um tipo de estrutura nas populações bastante diferente da de uma espécie tipicamente panmítica. Como se pode depreender, apesar do sistema reprodutivo da espécie ter relação com o tipo de estrutura de suas populações, não se pode prever o tipo de variação genética entre e dentro de populações só por esta característica.

BAWA & OPLER (1974) mostram que a presença de espécies dióicas é maior em florestas tropicais que nas temperadas, mencionando também que as espécies dióicas são polinizadas por pequenas abelhas de várias espécies e também por moscas e a sua vantagem, em relação as plantas hermafroditas auto-incompatíveis, seria o fato das plantas dióicas explorarem uma maior quantidade de microhabitats. Segundo BAWA (1980) um dos fatos assumidos na literatura é o de que a dioicia é uma forma de seleção para o aumento da fertilização cruzada. Porém, o autor argumenta que as pressões evolutivas para o aparecimento de espécies dióicas não é totalmente, para aumentar a fertilização cruzada, mas outros fatores ecológicos também estão envolvidos como a distribuição de nutrientes para as funções de macho e fêmea, seleção sexual, dispersão de sementes, polinização e predação. Portanto, a fertilização cruzada não é a força principal seletiva para o aparecimento de espécies dióicas.

O fato da aroeira ser dióica e estar

apresentando expressiva endogamia pode ser devido a uma ou várias causas. A primeira delas seria o efeito "gargalo de garrafa" como é citado por NEI et alii (1975) onde sugerem que, neste caso, a heterozigosidade média no começo é baixa (o que pode ser verificado na Tabela 16), tendendo a subir quando a população aumenta. No caso destas duas populações de aroeira, as mesmas poderiam ser originárias de poucos indivíduos remanescentes de derrubadas de florestas primárias. Assim, esses indivíduos teriam iniciado a nova colonização da aroeira, acarretando baixos valores de heterozigosidade média a altos coeficientes de endogamia. Neste caso, devia ocorrer uma divergência entre as duas populações, decorrentes do processo de amostragem, o que não foi constatado para os locos estudados.

Outro fator que pode ter levado a se encontrar valores expressivos de endogamia e baixos na taxa aparente de fertilização cruzada, nas populações de aroeira estudadas, podem estar relacionados com a amostragem feita. Assim, BROWN & WEIR (1983) fazem algumas questões sobre estratégias de amostragem que poderiam ter interferido na obtenção dos dados apresentados: i) Quantas populações são necessárias? ii) Quantas famílias em cada população devem ser amostradas? iii) Quantas plantas por família devem ser amostradas? iv) Quantos locos devem ser analisados por família? As respostas a estas perguntas só serão possíveis de serem respondidas, quando um número maior de estudos forem realizados com aroeira, podendo ou não confirmar os

dados obtidos neste estudo. LIU & GODT (1983) acrescentam ainda a estas questões os fatores de heterogeneidade ambiental que são manifestados na forma de pressão ambiental, sobre o fluxo gênico da espécie, interferindo, portanto, nos padrões de distribuição da variabilidade genética da espécie.

GURIES & LEDIG (1982) citam várias espécies de plantas com valores de $\hat{F}_{IS}$ variando de 0,41 a 0,67 e que estes valores observados em espécies de cruzamento são pelo fato de ter havido troca de gens entre indivíduos aparentados, aliado ao fato da limitada área de dispersão de sementes da espécie e a tendência do inseto polinizador em visitar flores adjacentes. Também é citado pelos autores que cruzamento entre vizinhos é equivalente ao cruzamento entre parentes, resultando em uma deficiência de heterozigotos.

SCHAAL (1975) trabalhando com uma planta herbácea, de cruzamento, encontrou valores de $\hat{F}_{IS} = 0,407$, $\hat{F}_{IT} = 0,426$ e $\hat{F}_{ST} = 0,069$, estes altos valores de $\hat{F}_{IS}$; segundo a autora, poderiam incluir parte do $\hat{F}_{ST}$ devido ao efeito Wahlund que pode ser originário de várias formas: a primeira delas seria a superestimativa do tamanho de vizinhança; a segunda estaria ligada ao fato de se realizar uma amostragem com uma área delimitada em uma espécie de distribuição variável; e a terceira seria pelo fato de estar havendo sobreposição de gerações, o que resultaria em uma amostragem com deficiência de heterozigotos.

A análise das populações de aroeira feita ao

nível de plântulas, onde segundo MUONA (1990), em populações naturais predomina a endogamia, que é eliminada da população quando a mesma atinge o estágio adulto. Este fenômeno poderia também ter contribuído para se encontrar esse nível expressivo de endogamia nas populações de aroeira estudadas. Pois, segundo YAZDANI et alii (1985) o índice de fixação (coeficiente de endogamia) é maior nas fases mais jovens das plantas do que na fase adulta. Portanto, se o presente estudo fosse realizado a partir de folhas adultas de aroeira de uma população natural, talvez as populações apresentassem um menor coeficiente de endogamia, o que ficaria em concordância com os resultados da literatura para as espécies arbóreas tropicais, pois nestes estudos o tipo de material da planta utilizado são folhas adultas.

Embora não existam estudos que comprovem a existência ou não da apomixia em aroeira, observações pessoais em uma árvore, isolada no Parque da ESALQ, que apresentou flores femininas, mostrou que a mesma produziu sementes férteis sem que houvesse a presença de uma árvore masculina por perto, dando então indícios de que este fenômeno talvez seja possível de acontecer em aroeira, pois segundo ASHTON (1984) a presença de apomixia em espécies tropicais raras é um fenômeno relativamente comum. Portanto, se tal fenômeno ocorrer, em aroeira, o mesmo poderia elevar a endogamia em populações desta espécie. No entanto, se fosse esse o caso, a variação dentro de famílias seria muito baixa, o que não se verificou, conforme será discutido

adiante. Uma outra possibilidade de formação de sementes seria a polinização a longa distância da espécie.

Portanto, os níveis de endogamia encontrados nas populações de aroeira estudadas poderiam ter quatro origens: a) efeito de estrutura familiar nas populações estudadas que ocorreu em função da perturbação existente, levando ao cruzamento entre indivíduos aparentados; b) problemas de amostragem com o número de locos estudados, pois uma informação mais segura seria obtido com estudo de um número maior de alelos e locos isoenzimáticos; c) análises eletroforéticas feitas na fase de plântulas, onde em condições naturais predominam os homozigotos, portanto, há uma maior probabilidade dos indivíduos amostrados serem homozigotos; d) uma possível existência de apomixia, embora esta última não tenha respaldo na literatura.

Segundo HAMRICK (1983) as espécies tipicamente alógamas mostram alta variação genética dentro de populações e pequena divergência genética entre populações. No caso da aroeira, que é alógama, pois é dióica, está ocorrendo significativa variação genética dentro de populações e pequena divergência entre, o que é bastante coerente. A única incoerência é o fato da espécie apresentar baixo valor para a taxa aparente de fertilização cruzada (t). Isto reforça a hipótese de que o baixo " t " é decorrência de um alto valor de " F ", causado, provavelmente, por acasalamento entre indivíduos aparentados e não por autofecundação. Porém, deve-se ressaltar que esta fórmula de estimar a taxa

de fertilização cruzada de uma espécie, como foi apresentada neste trabalho, não é a única e, como coloca JAIN (1979), fazendo uma comparação entre diferentes métodos de estimativa do valor de "t", em alguns casos, quando várias metodologias são aplicadas para o mesmo material pode-se chegar a resultados diferentes. Este fato fica evidente nos trabalhos de YEH et alii (1983) e KING & DANCİK (1984) onde duas metodologias de estimativa de "t" foram utilizadas em *Eucalyptus citriodora* e *Picea glauca*, respectivamente.

4.3. Resultados obtidos por análises quantitativas

4.3.1. Análises individuais dos testes de progênies

As estimativas dos parâmetros estatísticos obtidos nas duas populações, nas análises individuais em blocos casualizados, para os testes de progênies nas populações de Bauru-SP (Pop. B) e Selvíria-MS (Pop. S), para as características silviculturais: 1) altura de plantas (m); 2) altura da primeira bifurcação (m); 3) diâmetro a 30 cm (cm); 4) espessura da casca a 30 cm (cm); 5) densidade da casca a 30 cm (g/cm^3); 6) densidade básica da madeira a 30 cm (g/cm^3); 7) diâmetro médio da copa (m); 8) peso da matéria seca da copa (kg) e nutricionais: 9) N (%); 10) P (%); 11) K (%); 12) Ca (%); 13) Mg (%); 14) S (%) são apresentados na Tabela 14.

O coeficiente de variação experimental variou

TABRILA 14. Comparação entre alguns parâmetros estatísticos, para as características silviculturais e nutricionais estudadas nas populações de aroeira de Bauru-SP (Pop. B) e Selvíria - MS (Pop. S), estimados aos 3,5 anos, em Selvíria-MS.

CAR.	POPULAÇÕES					
	POP. (B)			POP. (S)		
	$\bar{X}^{(1)}$	F	CVexp	$\bar{X}$	F	CVexp
01	3,62	1,10 ^{ns}	14,86	3,45	1,33 ^{ns}	11,54
02	0,96	1,63 ^{ns}	17,76	0,96	1,34 ^{ns}	17,35
03	6,41	1,86 [*]	11,99	6,43	1,18 [*]	12,41
04	1,16	1,44 ^{ns}	11,65	1,16	1,31 ^{ns}	12,10
05	0,416	1,00 ^{ns}	6,03	0,424	1,00 ^{ns}	5,59
06	0,539	1,07 ^{ns}	7,89	0,528	0,67 ^{ns}	5,48
07	2,52	1,28 ^{ns}	15,70	2,51	2,17 ^{**}	12,03
08	3,56	1,08 ^{ns}	38,87	3,30	1,82 [*]	30,68
09	1,892	1,40 ^{ns}	6,56	1,906	1,81 [*]	7,86
10	0,118	1,67 ^{ns}	13,43	0,128	0,94 ^{ns}	20,49
11	0,803	1,27 ^{ns}	15,65	0,766	1,22 ^{ns}	17,37
12	0,673	1,98 [*]	15,18	0,752	0,62 ^{ns}	16,26
13	0,215	1,43 ^{ns}	24,43	0,240	0,51 ^{ns}	20,49
14	0,073	0,59 ^{ns}	15,25	0,085	1,02 ^{ns}	16,01

⁽¹⁾ $\bar{X}$: média geral da população; "F": obtido em cada teste de progênies para tratamentos (famílias); CVexp.: coeficiente de variação experimental em %.

de 6,03% a 38,87% na Pop. B, para as características 5 e 8, respectivamente, apresentando uma média de 15,38%. Na Pop. S essa variação foi de 5,48% a 30,68%, para as características seis e oito, respectivamente, com uma média de 14,69%. Portanto, em relação a este parâmetro estatístico as populações apresentaram, praticamente, o mesmo comportamento.

Na população B apenas as características três e doze apresentaram significância entre famílias. Em relação a população S as características três, sete, oito e nove apresentaram significância entre famílias; o que vem demonstrar as propriedades intrínsecas de cada população.

A população S, que é do mesmo município onde foram instalados os dois testes de progênies, apresentou um crescimento médio, em altura, um pouco inferior a Pop. B. Quanto ao I.M.A. (Incremento Médio Anual), o da Pop. B foi de 1,03 m e o da Pop. S foi de 0,98 m. Embora não tenham sido instalados os mesmos testes de progênies em Bauru-SP, o que permitiria se estimar a variância da interação genótipo x ambiente, verifica-se, nesta comparação de médias e de I.M.A., que ela está presente. Resultados da literatura apresentados por NOGUEIRA (1977), GARRIDO (1981), NOGUEIRA et alii (1982) e FAO (1986) apresentam I.M.A. iguais a 0,62 m, 1,07 m, 0,99 m e 1,28 m, respectivamente, para vários locais do Estado de São Paulo. LIMA et alii (1982) encontraram um I.M.A. de 0,57m em Petrolina-PE. Portanto, as populações estudadas vêm apresentando um desenvolvimento

comparável ao de ensaios anteriores, sendo que em alguns casos é superior e em outros inferior. As outras características analisadas serão abordadas posteriormente.

As estimativas da variância entre plantas dentro de famílias ($\hat{\sigma}_D^2$), da variância do erro ($\hat{\sigma}_E^2$), da variância entre família ($\hat{\sigma}_F^2$), da variância fenotípica ao nível de média de famílias ($\hat{\sigma}_-^2$) e as relações $RF = \hat{\sigma}_D^2 / \hat{\sigma}_F^2$, (5), e $RP = \hat{\sigma}_D^2 / \hat{\sigma}_E^2$, (6), são apresentadas nas Tabelas A8a para Pop. B e A8b, para a Pop. S (ver apêndice). Estas estimativas é que deram suporte, para o cálculo das estimativas dos parâmetros genéticos apresentados nas Tabelas 15a para Pop. B e 15b, para a Pop. S.

Verifica-se que na média geral das características quantitativas as relações "RF" e "RP" apresentaram, respectivamente, valores iguais a 31,80 e 3,47, para a Pop. B e de 26,80 e 6,04, para a Pop. S, o que caracteriza o sistema reprodutivo da aroeira, como uma espécie de cruzamento entre indivíduos. Estudos genéticos realizados por SIQUEIRA⁴, para várias procedências de aroeira do Estado de São Paulo e de Selvíria-MS, mostraram valores de de "RF" e "RP", iguais a 8,35 e 1,44, respectivamente, para a última procedência com idade de quatro anos. Já para as outras procedências com idade igual a nove anos, os valores de "RF" variaram de 3,31 a 16,06 e os

(1)

SIQUEIRA, A. C. M. F. (Instituto Florestal de São Paulo, Bauru-SP) comunicação pessoal, 1992.

de "RP" de 3,54 a 14,95. Embora a magnitude dos dados encontrados por SIQUEIRA¹ e os do presente trabalho (Tabelas A8a e A8b) para altura de plantas não sejam os mesmos, em ambas as situações eles fazem inferência para a predominância de um sistema de cruzamento entre os indivíduos, para as populações de aroeira.

As estimativas dos parâmetros genéticos, apresentados nas Tabelas 15a, Pop. B e 15b, Pop. S, mostraram que em ambas as populações o controle genético das características estudadas, na média geral, foram baixos. Isto pode estar relacionado com a idade (3,5 anos) em que foram obtidos os dados, já que a aroeira é uma espécie longeva e, portanto, muitos genes podem não ter se manifestado ainda, ou então deve-se às propriedades intrínsecas das populações estudadas. Verifica-se, quanto ao índice de seleção (b), que o mesmo variou de 0,00 a 0,57, para as características 14 e 12, respectivamente, com uma média geral, para Pop. B de 0,31. Quanto a Pop. S a média geral deste parâmetro foi de 0,23 e o mesmo variou de 0,00 (6, 10, 12 e 13) a 0,53 (8 e 9), sendo que os números entre parênteses indicam as características onde estes parâmetros foram obtidos; a média geral nesta população foi de 0,23. Este índice segundo VENCovsky (1987a) quanto mais próximo de 1,00 melhor é a característica para ser selecionada. Neste

(1)

SIQUEIRA, A. C. M. F. (Instituto Florestal de São Paulo, Bauru-SP) comunicação pessoal, 1992.

trabalho verificou-se que na média geral o valor deste parâmetro entre as duas populações estudadas, estão próximos, havendo uma ligeira superioridade da Pop. B em relação a Pop. S, porém existe pouca correlação entre os resultados encontrados para este parâmetro entre uma e outra população, quando se analisam as características quantitativas estudadas individualmente.

A herdabilidade, no sentido restrito, foi calculada em três níveis: h^2 , ao nível de plantas; h_x^2 , ao nível de média de famílias; h_D^2 , ao nível de progênies dentro de famílias. Ao lado de cada uma destas herdabilidades se encontra o seu respectivo coeficiente de variação fenotípico. Portanto, é possível se especular qual seria o ganho na seleção, em porcentagem, para uma determinada característica, aplicando-se a seguinte fórmula: $G_s (\%) = k \cdot CV_F \cdot h^2$, (32), onde k corresponde ao diferencial de seleção estandardizado em unidades de desvio padrão da característica que está sendo selecionada (VENCOVSKY, 1987a). Considerando a média geral das características estudadas há uma ligeira superioridade da estimativa da herdabilidade, calculada nos três níveis, para a população B em relação a população S. Quanto aos coeficientes de variação fenotípico, na média geral a Pop. S apresentou valores maiores ao nível de plantas e de progênies dentro de famílias, sendo inferiores ao nível de média de famílias.

Nas populações de aroeira estudadas, no presente trabalho, os valores médios encontrados

TABELA 15a. Comparação entre a estimativa de alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, para as características quantitativas estudadas na população de aroeira de Bauru-SP (Pop. B), estimados aos 3,5 anos em Selvíria-MS.

CAR.	$\hat{b}^{(*)}$	CV_G	CV_F	$\hat{h}^2$	CV_F^-	$\hat{h}_x^2$	CV_D	$\hat{h}_D^2$
01	0,18	2,68	24,06	0,05	8,99	0,09	20,02	0,05
02	0,46	8,11	41,20	0,16	13,07	0,38	38,77	0,13
03	0,54	6,43	23,98	0,29	9,45	0,46	21,10	0,28
04	0,38	4,49	21,96	0,17	8,08	0,31	19,34	0,16
05	0,04	0,24	9,64	0,00	3,49	0,00	8,04	0,00
06	0,15	1,22	13,78	0,03	4,72	0,07	12,05	0,03
07	0,30	4,80	26,45	0,13	10,26	0,22	22,16	0,14
08	0,16	6,16	68,28	0,03	23,27	0,07	59,63	0,03
09	0,36	2,40	10,32	0,22	4,48	0,28	8,07	0,26
10	0,47	6,35	23,57	0,29	10,02	0,40	19,46	0,32
11	0,30	4,66	25,10	0,14	10,17	0,21	20,26	0,16
12	0,57	8,69	28,67	0,37	12,34	0,50	24,15	0,39
13	0,38	9,29	41,78	0,20	16,89	0,30	34,65	0,22
14	0,00	0,00	18,25	0,00	6,77	0,00	12,22	0,00
$\bar{X}$	0,31	4,68	26,93	0,15	10,14	0,24	22,85	0,16

(*) $\hat{b}$: índice de seleção = $CV_G/CV_{exp.}$; CV_G : coef. de var. genético; CV_F : coef. de var. fenotípico; $\hat{h}^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de plantas; CV_F^- : coef. de var. fenotípico, ao nível de média de famílias; $\hat{h}_x^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de média de famílias; CV_D : coef. de var. fenotípico dentro de famílias; $\hat{h}_D^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de plantas dentro de famílias.

TABELA 15b. Comparação entre a estimativa de alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, para as características quantitativas estudadas na população de aroeira de Selvíria-MS (Pop. S), estimados aos 3,5 anos em Selvíria-MS.

CAR.	$\hat{b}^{(*)}$	CV_G	CV_F	$\hat{h}^2$	CV_F^-	$\hat{h}_x^2$	CV_D	$\hat{h}_D^2$
01	0,33	3,80	23,70	0,10	7,67	0,24	21,67	0,09
02	0,34	5,85	41,18	0,08	11,60	0,25	39,27	0,07
03	0,25	3,05	25,14	0,06	7,79	0,15	23,06	0,05
04	0,32	3,87	23,57	0,11	7,99	0,23	21,18	0,10
05	0,03	0,19	10,90	0,00	3,23	0,00	9,99	0,00
06	0,00	0,00	12,98	0,00	2,59	0,00	12,72	0,00
07	0,62	7,51	27,01	0,31	10,23	0,54	24,47	0,28
08	0,52	6,07	68,84	0,22	23,91	0,45	63,36	0,19
09	0,52	4,07	13,07	0,39	6,10	0,45	10,25	0,47
10	0,00	0,00	30,18	0,00	11,47	0,00	23,82	0,00
11	0,27	4,75	25,98	0,13	11,10	0,18	19,96	0,17
12	0,00	0,00	26,43	0,00	7,40	0,00	23,04	0,00
13	0,00	0,00	43,09	0,00	8,42	0,00	41,35	0,00
14	0,08	1,35	19,90	0,02	9,34	0,02	12,51	0,03
$\bar{X}$	0,23	3,61	28,00	0,10	9,20	0,18	24,76	0,10

(*) $\hat{b}$: índice de seleção = $CV_G/CV_{exp.}$; CV_G : coef. de var. genético; CV_F : coef. de var. fenotípico; $\hat{h}^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de plantas; CV_F^- : coef. de var. fenotípico, ao nível de média de famílias; $\hat{h}_x^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de média de famílias; CV_D : coef. de var. fenotípico dentro de famílias; $\hat{h}_D^2$: herdabilidade, no sentido restrito, ao nível de plantas dentro de famílias.

para o coeficiente de variação genético (4,68% e 3,61%, para as populações B e S, respectivamente) e de herdabilidade, no sentido restrito (0,15 e 0,10 para as populações B e S, respectivamente) foram inferiores aos encontrados por SIQUEIRA¹ para a altura de plantas: uma herdabilidade de 0,26, no sentido restrito, ao nível de plantas e um coeficiente de variação genético de 6,45%, para a procedência de Selvíria-MS, aos quatro anos de idade, instalada em Luís Antônio-SP.. Ainda em relação ao valor do coeficiente de variação genético encontrado para a aroeira, neste trabalho, o mesmo foi superior aos obtidos por KAGEYAMA (1990) para várias espécies nativas, avaliando a altura de plantas ($CV_g = 3,25\%$). Desta forma pode-se concluir que as populações de aroeira estudadas mostraram uma variação genética dentro da média encontrada para as espécies nativas.

Da mesma forma, o coeficiente de variação dentro de progênies (CV_p), que expressa a variação entre plantas dentro de famílias, apresentou valores médios de 22,85% e 24,86%, para as populações B e S, respectivamente, que são muito semelhantes aos obtidos por KAGEYAMA (1990) para diversas espécies nativas ($CV_p = 22,29\%$). Isto reforça a hipótese de não apomixia nas populações de aroeira, já que

(1)

SIQUEIRA, A. C. M. F. (Instituto Florestal de São Paulo, Bauru-SP) comunicação pessoal, 1992.

se este fenómeno tivesse ocorrido haveria uma variação muito baixa dentro das progênies.

4.3.2. Análise conjunta dos testes de progênies e comparação com o estudo das isoenzimas

As estimativas da variância entre populações ($\hat{\sigma}_p^2$), entre famílias dentro de populações ($\hat{\sigma}_f^2$), dentro de parcelas ($\hat{\sigma}_d^2$), obtidas na análise conjunta, envolvendo as duas populações de aroeira, para cada um dos caracteres quantitativos estudados, permitiram o cálculo da estimativa da variância total ($\hat{V}_o$), (9); como também a estimativa da variância entre repetições dentro de populações ($\hat{\sigma}_R^2$) são apresentadas na Tabela A9 (ver apêndice). Estas estimativas serviram de base para o cálculo da proporção da variabilidade genética entre ($\hat{\sigma}_p^2/\hat{V}_o$), (10), e dentro de populações $\left[\hat{\sigma}_f^2/\hat{V}_o + \hat{\sigma}_d^2/\hat{V}_o\right]$, (11), apresentadas na Tabela 16, juntamente, com os valores de "F" obtidos para as variações entre populações.

Dos quatorze caracteres quantitativos analisados, não se detectou variação genética significativa para nenhum deles, a julgar pelos valores de "F" obtidos.

TABELA 16. Estimativas do valor de "F" entre populações e da distribuição genética entre $(\hat{\sigma}_P^2/\hat{V}_G)$, (8), e dentro $[\hat{\sigma}_F^2/\hat{V}_G + \hat{\sigma}_D^2/\hat{V}_G]$, (10), das populações de aroeira estudadas, obtidas na análise conjunta para as características quantitativas, estimadas aos 3,5 anos, em Selvíria-MS.

CAR.	"F"	VARIAÇÃO GENÉTICA		
		ENTRE	DENTRO	
		$\hat{\sigma}_P^2/\hat{V}_G$	$\hat{\sigma}_F^2/\hat{V}_G$	$\hat{\sigma}_D^2/\hat{V}_G$
01	0,42 ^{ns}	-0,0440	0,0249	1,0191
02	0,14 ^{ns}	-0,0148	0,0322	0,9826
03	0,05 ^{ns}	-0,0768	0,0531	1,0237
04	0,09 ^{ns}	-0,0489	0,0410	1,0079
05	0,68 ^{ns}	-0,0115	0,0008	1,0107
06	0,29 ^{ns}	-0,0485	-0,0055	1,0540
07	0,04 ^{ns}	-0,1299	0,0769	1,0530
08	0,10 ^{ns}	-0,1064	0,0397	1,0667
09	0,08 ^{ns}	-0,1304	0,1301	1,0003
10	1,48 ^{ns}	0,0257	0,0275	0,9468
11	0,69 ^{ns}	-0,0156	0,0528	0,9628
12	1,03 ^{ns}	0,0032	0,0264	0,9704
13	2,16 ^{ns}	0,0222	0,0005	0,9773
14	0,88 ^{ns}	-0,1082	-0,0988	1,2070
MÉDIA (1)	-	-0,0489 (0,0000)	0,0287 (0,0274)	1,0202 (0,9726)

(1) - Valores entre parênteses foram calculados em função do total da estimativa da variância genética dentro (1,0489 = 100%).

A variação genética entre populações ($\hat{\sigma}_P^2/\hat{V}_O$), «9», foi baixa para a maioria das características quantitativas analisadas, com uma média geral igual a -0,0489 (0%). Em relação a variação genética dentro de populações [$\hat{\sigma}_F^2/\hat{V}_O + \hat{\sigma}_D^2/\hat{V}_O$], «10», verifica-se que a ($\hat{\sigma}_F^2/\hat{V}_O$) apresentou uma média de 0,0287 (2,74%). Portanto, a relação ($\hat{\sigma}_D^2/\hat{V}_O$) detectou uma maior variação dentro das populações, tendo uma média de 1,0202 (97,26%).

Fazendo-se uma comparação da porcentagem da variação genética entre e dentro de populações pela técnica da eletroforese e pela análise dos caracteres quantitativos, verifica-se que houve coerência entre os dois métodos, pois analisando-se os parâmetros estimados na Tabela 13 ($\hat{F}_{ST}$, $\hat{\theta}_2$, $\hat{G}_{ST}$ e $\hat{D}$) eles apresentaram uma média de 0,037, ou seja, 3,70% da variação genética é devida a divergência entre populações e 96,30% se refere às variações dentro de populações. Os dados médios da variação genética entre (0%) e dentro de populações (100%), obtidos através da análise dos caracteres quantitativos (Tabela 16), foram muito similares aos de isoenzimas. Esse tipo de resultado foi também encontrado em estudos citados por HAMRICK (1983). LAGERCRANTZ & RYMAN (1990), trabalhando com características morfológicas e variações isoenzimáticas em populações de *Picea abies*, observaram o mesmo padrão de distribuição da variabilidade genética, tanto pelo estudo das características morfológicas quanto pelo estudo das isoenzimas. Isto levou estes pesquisadores sugerirem que as

mesmas forças evolutivas tenham agido em ambos conjuntos de caracteres.

Se estes resultados são consistentes, e se esta comparação é possível, isto abre boas perspectivas para a utilização da genética quantitativa em espécies arbóreas nativas, visando quantificar variações genéticas entre e dentro das populações naturais. Isto reforça a necessidade de se buscar caracteres alternativos, fugindo dos tradicionais e poucos caracteres silviculturais utilizados para as espécies exóticas de interesse econômico no Brasil.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos e discutidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- a) a técnica da eletroforese mostrou-se eficiente no estudo de genética de populações de aroeira, na fase de plântulas, sendo possível uma avaliação de duas populações de aroeira, através do uso de três sistemas enzimáticos: AAT, IDH e LAP em um mesmo sistema de tampões de cuba e do gel. Outros sistemas enzimáticos mostraram-se promissores, como o ADH, 6PG, MDH, PGM, PGI, ACP e β -EST, porém, necessitariam de mais alguns ajustes. Quanto aos demais: ALD, G2D, GDH, GPD, ME, G6PD, SKDH e α -EST não foram satisfatórios para este estágio da planta;
- b) as populações de aroeira estudadas apresentaram uma expressiva endogamia e uma baixa taxa aparente de fertilização cruzada, detectados por várias metodologias de análises isoenzimáticas, o que sugere perturbações nas populações amostradas, ou uma amostragem deficiente do número de locos estudados;

- c) o número de alelos por loco, a heterozigosidade média e a porcentagem de locos polimórficos foi coerente com os resultados para espécies arbóreas tropicais, assim como a maior variabilidade genética dentro do que entre as populações, detectada por várias metodologias utilizadas, para as isoenzimas;
- d) as médias do coeficiente de variação genético e dentro de progênie, para os caracteres quantitativos estudados, apresentaram valores coerentes com os da literatura. A distribuição da variação genética foi maior dentro do que entre populações, o que evidenciou que uma análise da média de vários caracteres quantitativos apresentou resultados próximos ao estudo das isoenzimas;
- e) em função dos problemas genéticos detectados nas duas populações, no que diz respeito a endogamia, colocando dúvidas sobre a normalidade das mesmas, recomenda-se a coleta de sementes em populações de florestas primárias, tanto para a conservação "ex situ", como para novos estudos que venham contribuir para a discussão da questão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADANS, W.T. Application of isozymes in tree breeding. In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (Ed.) Isozymes in plant genetics and breeding - Part A. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p.381-400.
- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1991. 242p.
- ALLARD, R.W.; BABBEL, G.R.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L. Evidence of co-adaptation in *Avena barbata*. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Washington, 69: 3043-8, 1972.
- ANDERSON, R.L. & BANCROFT, T.A. Statistical theory in research. New York, McGraw-Hill, 1952. p.325-30.
- ASHTON, P.S. Biosystematics of tropical forest plants: a problem of rare species. In: GRANT, W.F. (Ed.). Plant biosystematics. New York, Academic Press, 1984. p.497-518.
- ASHTON, P.S. Speciation among tropical forest trees: some deductions in the light of recent evidence. Biological Journal Linneum Society, London, 1:155-96, 1969.

- AYALA, F.J. & KIGER, Jr., J.A. Modern genetics. 2.ed. Menlo Park, the Benjamin/Cummings. 1984. 798p.
- BAWA, K.S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. Evolution, Lancaster, 28:85-92, 1974.
- BAWA, K.S. Evolution of dioecy in flowering plants. Annual Review of Ecology and Systematics, Palo Alto, 11:15-39, 1980.
- BAWA, K.S. Patterns of flowering in tropical plants. In: JONES, C.E. & LITTLE, R.J. (Ed.). Handbook of experimental pollination biology. New York, Van Nostrand and Reinhold, 1983. p.394-410.
- BAWA, K.S. & KRUGMAN, S.L. Reproductive biology and genetics of tropical forest trees in relation to conservation and management. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON RAIN FOREST REGENERATION AND MANAGEMENT, Guri. 1986. 22p.
- BAWA, K.S. & OPLER, P.A. Dioecism in tropical forest tree. Evolution, Lancaster 29:167-179, 1974.
- BAWA, K.S.; PERRY, D.; GRAYUM, M.H; COVILLE, R.E. Reproduction biology of tropical lowland rain forest trees: 2. pollination systems. American Journal of Botany, New York, 72:346-56, 1985.
- BERGMANN, F. Identification of forest seed origin by means of isoenzyme gene frequencies. In: E.E.C. SYMPOSIUM ON FOREST TREE BIOCHEMISTRY, Brussels, Proceedings. 1977. p.151-62.

- BOYLE, T.J.B. & MORGENSTERN, E.K. Inheritance and linkage relationships of some isozymes of black spruce in New Brunswick. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 15(5):992-96, 1985.
- BOYLE, T.J.B. & MORGENSTERN, E.K. Some aspects of the population structure of black spruce in central New Brunswick. Silvae Genetica, Frankfurt, 36(2):53-60, 1987.
- BROTSCHOL, J.V.; ROBERDS, J.H.; NAMKOONG, G. Allozyme variation among North Carolina populations of *Liriodendron tulipifera* L. Silvae Genetica, Frankfurt, 35(4):131-8, 1986.
- BROWN, A.H.D. & ALLARD, R.W. Estimation of the mating system in open-pollinated maize populations using isozyme polymorphisms. Genetics, Princeton, 66:133-45, 1970.
- BROWN, A.H.D.; MATHESON, A.C.; ELDRIDGE, K.G. Estimation of the mating system of *Eucalyptus obliqua* L. Hér. by using allozyme polymorphisms. Australian Journal of Botany, East Melbourne, 23:931-49, 1975.
- BROWN, A.H.D. & WEIR, B.S. Measuring genetics variability in plant populations. In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (Ed.) Isoenzymes in plant genetics and breeding Parte A. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p.219-39.
- BUCKLEY, D.P.; O'MALLEY, D.M.; APSIT, V.; PRANCE, G.T.; BAWA, K.S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Humb., Bonpl, Lecythidaceae): 1. Genetic variation in

- natural populations. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 76:(6):923-28, 1988.
- CALLAHAM, R.Z. Provenance research investigation of genetic diversity associated with geography 4. Unasylva, Rome, 18(2/3):73-4, 1963.
- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A. Eletrophoretic identification of clones in trembling aspen. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 14(5):740-3, 1984.
- CHEKIAK, W.M. & PITEL, J.A. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Information report PI - X, Chalk River, (42):1-49, 1984.
- CONKLE, M.T. Amount and distribution of isozyme variation in various conifer species. In: MEETING OF THE CANADIAN TREE IMPROVEMENT ASSOCIATION, 17, Part. 2. SYMPOSIUM TREE IMPROVEMENT IN THE BOREAL FOREST: TODAY AND TOMORROW, Ottawa, 1980. Proceedings, p.109-17.
- CONKLE, M.T. Isozyme variation and linkage in six conifer species. In: SYMPOSIUM ON ISOZYMES OF NORTH AMERICAN FOREST TREES AND FOREST INSECTS, Berkeley. Proceedings, 1979. p.11-17.
- CONKLE, M.T.; HODGSKISS, P.D.; NUNNALLY, L.B. HUNTER, S.C. Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. USDA. Forest Service PSW General Technical Report, Berkeley (64):1-18, 1982.
- COTTERILL, P.P. Numbers of families and progeny required for provenance testing. Silvae Genetica, Frankfurt, 39(2):82-3, 1990.

- CRUZ, C.D. Algumas técnicas de análise multivariada no melhoramento de plantas. Piracicaba, ESALQ/USP/Departamento de Genética, 1987. 75p. (Mimeografado).
- EL-KASSABY, Y.A. Repeated relation between allozyme variation and a quantitative trait in douglas-fir. Egyptian Journal of Genetics and Cytology, Giza, 12(2):329-44, 1983.
- FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Trad. M.A. SILVA & J.C. SILVA. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1981. 279p.
- FALKENHAGEN, E.R. Isozyme studies in provenance research of forest trees. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 69:335-47, 1985.
- FAO. Databook on endangered tree and scrub species and provenances. Rome, 1986. p.116-25.
- FERET, P.P. & BERGMANN, F. Gel electrophoresis of proteins and enzymes. In: MIKSCH, J.P. (Ed.). Modern methods in forest genetics. Berlin, Springer Verlag, 1976. p.49-77.
- FONSECA, S.M. Variações fenotípicas e genéticas em bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth). Piracicaba, 1982. 86p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
- FOWLER, D.P. & MORRIS, R.W. Genetic diversity in red pine: evidence for low genic heterozygosity. Canadian Journal Forest Research, Ottawa, 7:343-7, 1977.

- GAN, Y.Y.; ROBERTSON, F.W.; SOEPADMO, E. Isozyme variation in some rain forest trees. Biotropica, Saint Louis, 13(1):20-8, 1981.
- GARRIDO, M.A.O. Caracteres silviculturais e conteúdo de nutrientes no folheto de alguns povoamentos puros e mistos de espécies nativas. Piracicaba, 1981. 118p. (Mestrado-ESALQ/USP)
- GEBUREK, T.; SCHOLZ, F.; KNABE, W., VORNWEG, A. Genetic studies by isozyme gene loci on tolerance and sensitivity in an air polluted *Pinus sylvestris* field trial. Silvae Genetica, Frankfurt, 36(2):49-53, 1987.
- GILBERT, L.E. Food web organization and the conservation of neotropical diversity. In: SOULÉ, M.E. & WILCOX, B.A. (Ed.) Conservation biology. Sunderland, Sinauer Associates Inc., 1980. p.11-33.
- GOTTLIEB, L.P. Gel electrophoresis: new approach to the study of evolution. Bioscience, Washington, 21(18):939-44, 1971.
- GURIES, R.P. & LEDIG, F.T. Genetic diversity and population structure in pitch pine (*Pinus rigida* Mill). Evolution, Lancaster, 36(2):387-402, 1982.
- GURIES, R.P. & LEDIG, F.T. Inheritance of some polymorphic isoenzymes in pitch pine (*Pinus rigida* Mill). Heredity, Harlow, 40(1):27-32, 1978.
- HAMRICK, J.L. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: SOLTIS, D.E. &

- SOLTIS, P.S. (Ed.) Isozymes in plant biology. Portland, Dioscorides Press, 1989. p.87-105.
- HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. In: SCHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, W.L. (Ed.). Genetic and conservation. Menlo Park, The Benjamin/cummings, 1983. p.335-48.
- HAMRICK, J.L. Variation and selection in western montane species II. Variation within and between populations of white fir an elevational transect. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 47:27-34, 1976.
- HAMRICK, J.L. & ALLARD, R.W. Correlations between quantitative characters and enzyme genotypes in *Avena barbata*. Evolution, Lancaster, 29:438-42, 1975.
- HAMRICK, J.L. & ALLARD, R.W. Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Washington, 69:2100-4, 1972.
- HAMRICK, J.L. & GODT, M.J. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S. (Ed.) Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sunderland, Sinauer Associates Inc, 1990. p.43-63.
- HAMRICK, J.L. & LOVELESS, M.D. Isozyme variation in tropical trees: Procedures and preliminary results. Biotropica, Saint Louis, 18:201-7, 1986.

- HAMRICK, J.L.; MITTON, J.B.; LINHART, Y.B. Levels of genetic variation in trees: influence of life history characteristics. In: SYMPOSIUM ON ISOZYMES OF NORTH AMERICAN FOREST TREES AND FOREST INSECTS, Berkeley. Proceedings. 1979. p.35-41.
- HEIDRICH-SOBRINHO, E. Isoenzimas como marcadores genéticos na identificação de nove linhagens de milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 17(2):281-6, 1982.
- HEYWOOD, J.S. & FLEMING, T.H. Patterns of allozyme variation in three Costa Rican species of piper. Biotropica, Saint Louis, 18:208-43, 1986.
- HUBELL, S.P. & FOSTER, R.B. Diversity of canopy trees in a neotropical forest and implication for conservation. In: SUTTON, S.L.; WHITMORE, T.C.; CHADWIK, S.C. (Ed.). Tropical rain forest: ecology and management. Oxford, Black well Scientific, 1983. p.25-41.
- JAIN, S.K. Estimation of outcrossing rates: some alternative procedures. Crop Science, Madison, 19(1):23-6, 1979.
- KAGEYAMA, P.Y. Conservação "in situ" de recursos genéticos de plantas. IPEF, Piracicaba, 35:7-37, 1987.
- KAGEYAMA, P.Y. Genetic structure of tropical trees species of Brazil. In: BAWA, K.S. & HADLEY, M. (Ed.) Reproductive ecology of tropical forest plants. Paris. UNESCO. 1990. p.375-87.
- KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden.

Piracicaba, 1980. 125p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz/USP)

KAGEYAMA, P.Y.; BIELLA, L.C.; PALERMO Jr., A. Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campus do Jordão, 1990, SBS/SBEF, São Paulo, 1990. p.109-18.

KAGEYAMA, P.Y. & DIAS, I.S. Aplicação da genética em espécies florestais nativas. Silvicultura em São Paulo, São Paulo, 16A (Parte 2):782-91, 1982.

KAGEYAMA, P.Y. & PATINO-VALERA, F. Conservacion y manejo de recursos geneticos forestales: Factores que influyen en la estructura y diversidad de los ecosistemas forestales. Trabalho convidado apresentado no IX CONGRESSO FLORESTAL MUNDIAL, México, Jul. 1985.

KANASHIRO, M. The demographic genetics of an appalachian stand of Liriodendron tulipifera L.. Raleigh, 1990. 135p. (North Carolina State University - Ph.D. Thesis)

KEMP, J. Seed procurement for species and provenance research. In: BURLEY, J. & WOOD, J.P. (Ed.). A manual on species and provenance research with particular reference to the tropics. Oxford, Commonwealth Forestry Institute, 1976. p.34-43.

KEPHART, S.R. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. American Journal of Botany, New York, 77(5):693-712, 1990. (Special Paper)

- KIANG, Y.T. & CHIANG, Y.C. Comparing differentiation of wild soybean (*Glycine soja* Sieb & Zucc) population based on isozymes and quantitative traits. Botanical Bulletin of Academia Sinica, Published by Institute of Botany. Academia Sinica, Taipei, Taiwan, Republic of China, 31:129-42, 1990.
- KIM, Z.S. Inheritance of leucine aminopeptidase and acid phosphatase isozymes in beech (*Fagus sylvatica* L.). Silvae Genetica, Frankfurt, 28(2/3):68-71, 1979.
- KING, J.N. & DANCİK, B.P. Genetic structure and mating system of white spruce (*Picea glauca*) in a seed production area. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 14(5):639-43, 1984.
- LAGERCRANTZ, U. & RYMAN, N. Genetic structure of norway spruce (*Picea abies*): concordance of morphological and allozymic variation. Evolution, Lancaster, 44(1):38-53, 1990.
- LAGERCRANTZ, U.; RYMAN, N.; STAHL, G. Protein loci in diploid tissue of norway spruce (*Picea abies* K.): description and interpretation of electrophoretic variability patterns. Hereditas, Lund, 108:149-58, 1988.
- LEBRUN, P. & CHEVALLIER, M.H. Starch and polyacrylamide gel electrophoresis of *Hevea brasiliensis*: a laboratory manual. Montpellier, I.R.C.A./C.I.R.A.D., 1988. 44p.
- LEWONTIN, R.C.; GIENZBURG, L.R.; TULJA-PURKAR, S.D. Heterosis as an explanation for large amounts of genic polymorphism. Genetics, Princeton, 88: 149-69, 1978.

- LIMA, P.C.; SOUZA, S.M.; DRUMOND, M.A. Competição de espécies florestais nativas em Petrolina-PE. Silvicultura em São Paulo, São Paulo, 16A(Parte 2):1139-48, 1982.
- LIU, E.H. & GODT, M.J.W. The differentiation of populations over short distance. In: SCHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; MacBRYDE, B.; THOMAS, W.L. (Ed.). Population and Conservation. Menlo Park, the Benjamin/Commings, 1983. p.78-95.
- LOVELESS, M.D. & HAMRICK, J.L. Distribución de la variación en especies de árboles tropicales. Revista de Biología Tropical, San Jose, 35(1):165-75, 1987.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, E.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba. 1989. 201p.
- MARKERT, C.L. Isozymes: conceptual history and biological significance. In: Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research. New York, 7:1-17, 1983.
- MARCON, G. Estrutura genética de populações de *Stylosanthis humilis* H.B.K. (Leguminosae) de três regiões ecogeográficas do Estado de Pernambuco. Piracicaba, 1988. 125p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- MARTINS, P.S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação "in situ". IPRE, Piracicaba, (35):71-8, 1987.
- MARTY, T.L.,; O'MALLEY, D.M.; GURIES, R.P. A manual for starch gel electrophoresis: new microwave edition. Staff

- Paper Series - Departament of Forestry - School of Natural Resoucers - College of Agricultural and life Sciences - University of Wisconsin - Madison, 1984. 24p.
- MEDINA FILHO, H.P. Eletroforese em gel de amido: aplicações em genética e melhoramento de plantas. Circular - IAC, Campinas, (121):1-15, 1983.
- MITTON, J.B. Conifers, In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (Ed.) Isozymes in plant genetics and breeding. Part B. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p.443-73.
- MITTON, J.B.; LINHARD, Y.B.; HAMRICK, J.L.; BECKMAN, J.S. Observations on the genetic structure and mating system of ponderosa pine in the Colorado Front Range. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 51:5-13, 1977.
- MITTON, J.B.; LINHART, Y.B.; STURGEON, K.B.; HAMRICK, J.L. Allozyme polymorphisms detected in nature needle tissue of ponderosa pine. The Journal of Heredity, Washington, 70:86-9, 1979.
- MORAN, G.F. & BELL, J.C. *Eucalyptus*. In: TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. (Ed.) Isozymes in plant genetics and breeding - Part B. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B. V., 1983. p.423-41.
- MÜLLER-STARCK, G. & LIU, Y.Q. Genetics of *Cunninghamia lanceolata* Hook 1. Genetic analysis. Silvae Genetica, Frankfurt, 37(5/6):236-43, 1988.

- MUONA, O. Populations genetics in forest tree improvement .
In: BROW, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S.
(Ed.) Plant populations genetics, breeding, and genetic
resoucers. Sunderland, Sinaner Associats Inc., 1990.
p.282-98.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L.; HUBBELL, S.P.; FOSTER, R.B.
Mating systems of two bombacaceous trees of a neotropical
moist forest. Oecologia, Berlin, 82:501-06, 1990.
- NANKONG, G.; BARNES, R.D.; BURLEY, J. A philosophy of
breeding strategy for tropical forest trees. Tropical
Forest Papers, Commonwealth Forestry Institute, Oxford,
16:1-67, 1980.
- NEALE, D.B.; WEBER, J.C.; ADAMS, W.T. Inheritance of needle
tissue isozymes in douglas-fir. Canadian Journal of
Genetics and Cytology, Ottawa, 26(4):459-68, 1984.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided
populations. PROCEEDING OF THE NATIONAL ACADEMIC OF
SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, Washington,
70:3321-23, 1973.
- NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in
subdivided populations. Annals of Human Genetics, London,
41:225-33, 1977.
- NEI, M. Genetic distance between populations. American
Naturalist, Lancaster, 106:283-92, 1972.
- NEI, M. Molecular population genetics and evolution. New
York, American Elsevier Publ. Co., Inc., 1975. 288p.

- NEI, M.; MARAYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution, Lancaster, 29(1):1-10, 1975.
- NIKOLIC, D. & TUCIC, N. Isozyme variation within and among populations of european black pine (*Pinus nigra* Arnold). Silvae Genetica, Frankfurt, 32(3/4):80-9, 1983.
- NOGUEIRA, J.C.B. Reflorestamento heterogêneo com essências indígenas. Boletim Técnico - IESP, São Paulo, (24):1-74, 1977.
- NOGUEIRA, J.C.B.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; MORAIS, E.; CORELHO, L.C.C.; MARIANO, G.; KAGEYAMA, P.Y.; ZANATTO, A.C.S.; FIGLIOLIA, M.B. Conservação genética de essências nativas através de ensaios de progênie/procedência. Silvicultura em São Paulo, São Paulo, 16A(part 2):957-69, 1982.
- O'MALLEY, D.M.; ALLENDORF, F.W.; BLAKE, G.M. Inheritance of isozyme variation and heterozygosity in *Pinus ponderosa*. Biochemical Genetics, New York, 17:233-50, 1979.
- O'MALLEY, D.M. & BAWA, K.S. Mating system of a tropical rain forest tree species. American Journal of Botany, New York, 74(8):1143-49, 1987.
- O'MALLEY, D.M.; BUCKLEY, D.P.; PRANCE, G.T.; BAWA, K.S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. and Bonpe: Lecythidaceae): 2. Mating System. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 76(6):929-32, 1988.
- O'REILLY, G.J.; PARKER, W.H.; CHELIAK, W.N. Isozyme differentiation of upland and lowland *Picea mariana*

- stands in Northern Ontario. Silvae Genetica, Frankfurt, 34(6):214-21, 1985.
- PAIVA, J.R. Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd) ex Ahr. de Juss) Müell. Arg.). Piracicaba, 1992. 144p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. Manual technique de génétique par électrophorèse des protéines. Technique et Documentation (Lavoisier), Paris, 1987. 203p.
- PIMENTEL, A.M. Utilização da técnica da eletroforese em genética florestal. Série Técnica - IPEF, Piracicaba, 5(15):1-27, 1988.
- PIRES, C.L.S. Estudo do polimorfismo enzimático em esterases de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. Campinas, 1983. 53p. (Mestrado - Universidade Estadual de Campinas).
- PIRES, I.E. Variabilidade genética em progênies de uma população de algaroba - *Prosopis juliflora* (SW) DC-DA - região de Soledade - Paraíba. Piracicaba, 1984. 93p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- PITEL, J.A. & CHELIAK, W.M. Effect of extraction buffers on characterization of isozymes from vegetative tissues of five conifer species: A user's manual. Information Report PI - X, Chalk River, (34):1-64, 1984.

- PITEL, J.A.; CHELIAK, W.M.; BARRETT, J. Inheritance of allozymes in a black spruce diallel cross. Silvae Genetica, Frankfurt, 36(3/4):149-53, 1987.
- PLESSAS, M.E. & STRAUSS, S.H. Allozyme differentiation among populations, stands, and cohorts in Monterey pine. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 16(6):1155-64, 1986.
- RIBEIRO, J.H. Durável além de uma vida. Globo Rural, Rio de Janeiro, 5(49):85-90, 1989.
- RITLAND, K. & JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. Heredity, Harlow, 47(1):35-52, 1981.
- RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil - Manual de dendrologia brasileira. Editora Edgard Blücher Ltda. e Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1971. 294p.
- RUDIN, D. Biochemical genetics and selection application of isozymes in tree breeding. In: IUFRO JOINT MEETING OF WORKING PARTIES ON POPULATION AND ECOLOGICAL GENETICS, BREEDING THEORY AND PROGENY TESTING, Bordeaux, 1976. Proceedings. p.145-64.
- RUDIN, D. The isozyme technique - a short-cut to the genes of our forest trees? Illustrations using *Pinus sylvestris* L.. 1977. Umea, 53p. (Thesis-Department of Genetics - University of Umea)
- RUDIN, D. & LINDGREN, D. Isozyme in seed orchards. Studia Forestalia Suecia, Helsinki, (139):1-23, 1977.

- RUDIN, D. & LINDKVIST, K. Forest isozyme studies in Umea Sweden. In: E.E.C. SYMPOSIUM ON FOREST TREE BIOCHEMISTRY. Brussels, 1977. Proceedings. p.133-50.
- RYU, J.B. & ECKERT, R.T. Foliar isozyme variation in twenty seven provenances of *Pinus strobus* L.: genetic diversity and population structure. In: NORTH EASTERN TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 28, Durhan, 1982. Proceedings. p.249-61.
- SAIDMAN, B.O. Isoenzymatic studies of alcohol dehydrogenase and glutamate oxalacetate transaminase in four South American species of *Prosopis* and their natural hybrids. Silvae Genetica, Frankfurt, 35(1):3-10, 1986.
- SANTIN, D.A. Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e reavaliação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allem. (Anacardiaceae). Campinas, 1989. 178p. (Mestrado - Universidade Estadual de Campinas).
- SANTOS, M.M. Polimorfismo isoenzimático de população subespontânea de Dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.) do Estado da Bahia e sua relação genética com seis procedências africanas. Ribeirão Preto, 1991. 105p. (Doutorado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP).
- SANTOS, M.M. Solubilização de enzimas a partir de tecidos vegetais: uma contribuição para a compreensão dos problemas relacionados com a manutenção da atividade enzimática em extratos vegetais submetidos à

- eletroforese. Ribeirão Preto, FMRP/USP, 1990. 37p. (Mimeografado).
- SANTOS, M.M. & MESTRINER, M.A. Isozyme extraction from nature Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) leaves for electrophoretic studies. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 12(3):655-57, 1989. (Short Communication).
- SCANDALIOUS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of isozymes in plants. Biochemical Genetic, New York, 3:37-79, 1969.
- SCHAAL, B.A. Population structure and local differentiation in *Liatris cylindracea*. The American Naturalist, Lancaster, 109(969):511-28, 1975.
- SCHAAP, T. The applicability of the Hardy-Weinberg principle in the study of populations. Annals of Human Genetics, London, 44:211-15, 1980.
- SHAW, C.R. & PRASAD, R. Starch gel electrophoresis of enzymes - A compilation of recipes. Biochemical Genetics, New York, 4:297-320, 1970.
- SHAW, D.V. & ALLARD, R.W. Estimation of outcrossing rates in douglas-fir using isozymes markers. Theoretical and Applied Genetics, Asheville, 62:113-20, 1982.
- SHIMIZU, J.Y.; KAGEYAMA, P.Y.; HIGA, A.R. Procedimentos e recomendações para estudos de progênies de essências florestais. Curitiba, EMBRAPA/URPFCS, 1982. 34p.

- SHIRAIISHI, S. Inheritance of isozyme variations in japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl. Silvae Genetica, Frankfurt, 37(3/4):93-100, 1988.
- SILVA, J.C. Parâmetros da densidade na qualidade da madeira. Piracicaba, ESALQ, Departamento de Ciências Florestais, 1984. 82p. (Mimeografado).
- SNEDECOR, G.W. Statistical methods. Ames, The Iowa State University Press, 1956. p.271-5.
- SURLES, S.E.; HAMRICK, J.L.; BONGARTEN, B.C. Allozyme variation in black locust (*Robinia pseudoacacia*). Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 19:471-78, 1989.
- SWOFOORD, D.L. Biosys: Program Computer. Illinois, 1989.
- TANKSLEY, S.D. & ORTON, T.J. Isozymes in plant genetics and breeding - Part A. Amsterdam, Elsevier Science Publishing B.V., 1983. 516p.
- TRANI, P.E.; HIROCE, R.; BATAGLIA, O.C. Análise foliar: amostragem e interpretação. Campinas, Fundação Cargill, 1983. 19p.
- VELLO, N.A. & VENCovsky, R. Variâncias associadas as estimativas de variâncias genéticas e coeficientes de herdabilidade. Relatório Científico do Departamento de Genética e Instituto de Genética. Piracicaba, 8:238-48, 1974.
- VENCovsky, R. Análise da variância de frequências alélicas. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE GENÉTICA, 10, Rio de Janeiro, 1992. Proceedings, Revista Brasileira de

- Genética. Suplemento 1; Ribeirão Preto, 15(1):53-60, 1992.
- VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G.P. (Ed.). Melhoramento e produção de milho. Campinas, Fundação Cargill, 1:137-214, 1987a.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógomas. IPEF, Piracicaba, (35):79-84, 1987b.
- WEIR, B.S. Genetic data analysis: Methods for discrete population genetic data. Sunderland, Sinauer Associates, Inc. Publishers, 1990. 377p.
- WENDEL, J.F. & WEEDEN, N.F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D.E. & SOLTIS, P.S. (ed.). Isozymes in plant biology. Portland, Dioscorides Press, 1989. p.5-45.
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F - statistics with special regard to systems of mating. Evolution, Lancaster, 19:395-420, 1965.
- WRIGHT, S. Variability within and among natural populations. Chicago, University of Chicago Press, 1978. v.4, 579p. (Evolution and genetics of populations).
- YAMADA, M.M. & GURIES, R.P. A manual for starch gel electrophoresis: new chocolate lovers edition. Staff Paper Series n.39, Department Forestry, University of Wisconsin, Madison, 1989. 22p.
- YAZDANI, R.; MUONA, O.; RUDIN, D.; SZMIDT, A.E. Genetic structure of a *Pinus sylvestris* L. seed-tree stand and

- naturally regenerated understory. Forest Science, Bethesda, 31(2):430-6, 1985.
- YEH, F.C. The role of isozyme research in tree improvement. In: CANADIAN TREE IMPROVEMENT ASSOCIATION PART 2. SYMPOSIUM: TREE IMPROVEMENT IN THE BOREAL FOREST: TODAY AND TOMORROW, 17, Ottawa, 1980, Proceedings, p.101-8.
- YEH, F.C.; BRUNE, A.; CHELIAK, W.M.; CHIPMAN, D.C. Mating system of *Eucalytus citriodora* in a seed-production area. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 13(6):1051-55, 1983.
- YEH, F.C. & EL-KASSABY, Y.A. Enzyme variation in natural populations of sitka spruce (*Picea sitchensis* Bong. Carr.) I. Genetic variation patterns in the IUFRO provenances In: NORTHWEST SCIENCE ASSOCIATION MEETING BELLINGHAM, 52, Washington, 1979. Proceedings, p.25.
- YEH, F.C.; KHALIL, M.A.K.; EL-KASSABY, Y.A.; TRUST, D.C. Allozyme variation in *Picea mariana* from Newfoundland: genetic diversity population structures and analysis of differentiation. Canadian Journal of Forest Research, Ottawa, 16(4):713-20, 1986.
- YEH, F.C. & LAYTON, C. The organization of genetic variability in central and marginal populations of lodgepole pine *Pinus contorta* spp. *latifolia*. Canadian Journal of Genetics and Cytology, Ottawa, 21:487-503, 1979.
- YEH, F.C. & O'MALLEY, D.M. Enzyme variations in natural populations of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb.

Franco) from British Columbia. I. Genetic variation patterns in coastal populations. Silvae Genetica, Frankfurt, 29(3/4):83-92, 1980.

ZOBEL, B.J. & TALBERT, J. Applied forest tree improvement. New York, John Wiley, 1984. 505p.

A P E N D I C E

Tabela A1. Recentes estudos de variações isoenzimáticas em pesquisas com espécies florestais de coníferas e angiospermas.⁽¹⁾

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/LOCOS	ALELOS/LOCOS	REFERÊNCIAS
1) Coníferas			
<i>Cunninghamia lanceolata</i>	GDH/1	4	MÜLLER-STARCK & LIU (1988)
	GOT/3	3/3/3	" "
	IDH/1	4	" "
	6PGDH/2	6/3	" "
	PGI/1	6	" "
	SKDH/2	7/3	" "
<i>Picea abies</i>	EST/2	2/3	BERGMANN (1977)
	LAP/2	4/4	" "
	SAP/2	3/5	" "
	AAT/3	3/3/1	LAGERCRANTZ et alii (1988)
	CAT/1	-	" "
	DIA/1	-	" "
	EST/1	3	" "
	GDH/1	1	" "
	PGI/2	4/-	" "
	IDH/2	3/-	" "
	LAP/2	4/4	" "
	MDH/3	2/1/1	" "
	PGDH/4	-/4/-/1	" "
	PGM/1	1	" "
	SOD/2	1/-	" "
	AAT/3	4/4/1	LAGERCRANTZ & RYMAN (1990)
	CAT/1	1	" "
	DIA/1	1	" "
	EST/1	4	" "
	GDH/1	3	" "
	PGI/2	3/1	" "
	IDH/2	5/2	" "
	LAP/2	5/3	" "
	MDH/4	2/2/1/2	" "
	PGDH/2	5/2	" "
	PGM/1	3	" "
	SOD/2	2/1	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALÉLOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Picea glauca</i>	GDH/1	2	KING & DANCİK (1984)
	IDH/1	3	" "
	PGI/1	3	" "
	PGM/1	2	" "
<i>Picea mariana</i>	ALD/1	3	BOYLE & MORGENSTERN (1985)
	AAT/1	3	" "
	FUM/1	4	" "
	G6P/1	4	" "
	GDH/1	2	" "
	IDH/1	3	" "
	MDH/3	2/1/5	" "
	PGM/1	3	" "
	6PGD/2	3/3	" "
	PGI/1	5	" "
	SKDH/1	3	" "
	ALD/1	3	BOYLE & MORGENSTERN (1987)
	AAT/1	3	" "
	FUM/1	2	" "
	G6P/1	4	" "
	GDH/1	2	" "
	IDH/1	2	" "
	MDH/1	3	" "
	PGM/1	3	" "
	6PGD/2	3/3	" "
	PGI/1	3	" "
	AAT/3	1/2/3	PITEL et alii (1987)
	MDH/4	1/1/4/1	" "
	ACO/1	3	" "
	GDH/1	2	" "
	PGM/1	3	" "
	LAP/2	2/1	" "
	SKDH/1	2	" "
<i>Pinus attenuata</i>	ACPH/3	2/2/2	CONKLE (1979)
	ADH/1	3	" "
	EST/1	6	" "
	GDH/1	1	" "
	GOT/3	2/2/2	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Pinus attenuata</i>	G6PD/2	2/1	CONKLE (1979)
	IDH/1	2	" "
	MDH/3	1/2/1	" "
	LAP/2	3/2	" "
	6PGD/2	2/2	" "
	PGM/1	2	" "
	SOD/2	1/1	" "
<i>Pinus contorta</i>	AAT/2	3/4	YEH & LAYTON (1979)
	ACO/1	4	" "
	ADH/1	4	" "
	AK/2	3/2	" "
	DIA/2	4/3	" "
	GDH/1	3	" "
	G6P/1	3	" "
	IDH/1	2	" "
	MDH/4	2/3/3/4	" "
	MR/2	1/5	" "
	PEP/1	2	" "
	PGI/2	3/3	" "
	PGM/1	4	" "
	6PG/2	4	" "
	PHOS/1	5	" "
	GLU/1	2	" "
	ACPH/4	2/5/1/2	CONKLE (1979)
	ACO/1	2	" "
	ADH/1	5	" "
	ALD/2	2/2	" "
	CAT/1	2	" "
	DIA/3	3/3/3	" "
	EST/3	7/3/3	" "
	F-EST/1	2	" "
	GDH/1	3	" "
	GOT/2	4/2	" "
	G6PDH/2	2/2	" "
	IDH/1	2	" "
	MDH/3	3/5/3	" "
	LAP/2	4/5	" "
	ALAP/2	2/2	" "
	PEP/1	1	" "
	PER/2	2/7	" "
	6PGD/2	2/2	" "
	PGI/2	2/2	" "
	PGM/1	1	" "
	SOD/2	1/2	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Pinus jeffreyi</i>	ACPH/2	4/5	CONKLE (1979)
	ACO/1	3	" "
	ADH/1	3	" "
	ALD/2	2/1	" "
	CAT/1	3	" "
	DIA/4	5/2/2/2	" "
	EST/3	6/6/3	" "
	F-EST/1	3	" "
	GDH/1	1	" "
	GOT/3	4/3/2	" "
	G6PD/2	3/2	" "
	IDH/1	2	" "
	MDH/3	2/3/2	" "
	LAP/2	6/4	" "
	ALAP/2	3/4	" "
	PEP/2	1/1	" "
	PER/2	3/5	" "
	6PGD/2	3/3	" "
	PGI/2	2/3	" "
	PGM/1	2	" "
	SOD/5	2/1/1/2/3	" "
<i>Pinus ponderosa</i>	F-EST/1	4	MITTON et alii (1979)
	EST/1	3	" "
	GDH/1	2	" "
	PGM/2	3/3	" "
	PGI/1	3	" "
<i>Pinus radiata</i>	ACO/1	4	PLESSAS & STRAUSS (1986)
	ACP/2	4/3	" "
	ADH/1	3	" "
	ALAP/1	4	" "
	F-EST/1	2	" "
	FUM/1	2	" "
	GDH/1	3	" "
	GOT/1	4	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Pinus radiata</i>	GPD/1	2	PLESSAS & STRAUSS (1986)
	IDH/1	2	" "
	LAP/1	5	" "
	ME/1	4	" "
	MNR/1	2	" "
	MPI/2	2/-	" "
	PEP/1	4	" "
	PGI/1	3	" "
	PGM/1	2	" "
	PGD/2	3/2	" "
	UGP/2	2/2	" "
<i>Pinus rigida</i>	IDH/1	2	GURIES & LEDIG (1978)
	MDH/2	3/4	" "
	6PGD/2	5/3	" "
	ACO/1	3	" "
	PGM/2	2/2	" "
	PGI/2	2/2	" "
	GOT/2	3/2	" "
	LAP/2	2/-	" "
<i>Pinus sylvestris</i>	SKDH/2	4/2	GEBOURX et alii (1987)
	6PGDH/1	2	" "
	GOT/3	2/3/2	" "
	GDH/1	2	" "
	PGM/1	3	" "
	LAP/1	3	" "
<i>Pinus taeda</i>	ACPH/1	7	CONKLE (1979)
	ADH/1	2	" "
	EST/2	6/4	" "
	GOT/3	3/3/2	" "
	LAP/2	4/4	" "
	PGM/1	3	" "
<i>Pinus thunbergii</i>	ADH/3	3/1/4	SHIRAISHI (1988)
	SDH/1	4	" "
	SKDH/2	3/8	" "
	G2D/1	3	" "
	MDH/2	3/2	" "
	ME/1	3	" "
	6PGD/3	3/4/2	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALKLOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS	
<i>Pinus thunbergii</i>	G6PD/1	3	SHIRAISHI (1988)	
	GDH/1	2	"	"
	POD/1	2	"	"
	TZO/4	1/1/2/8	"	"
	GOT/3	2/4/1	"	"
	GK/1	4	"	"
	PGM/2	3/5	"	"
	EST/4	3/4/4/2	"	"
	AMY/1	4	"	"
	LAP/2	5/5	"	"
	FM/1	2	"	"
	PGI/1	4	"	"
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	ACPH/1	3	CONKLE (1979)	
	EST/1	8	"	"
	GOT/3	2/4/3	"	"
	G6PD/2	4/2	"	"
	IDH/1	5	"	"
	MDH/3	4/2/5	"	"
	LAP/2	8/4	"	"
	6PGD/2	3/3	"	"
	PGM/1	3	"	"
	SOD/2	3/4	"	"
	AAT/2	1/3	YEH & O'MALLEY (1980)	
	ACO/1	2	"	"
	ALD/1	3	"	"
	DIA/1	3	"	"
	EST/1	4	"	"
	GDH/1	2	"	"
	G6P/1	3	"	"
	IDH/1	4	"	"
	MDH/4	4/3/3/2	"	"
	ME/2	2/3	"	"
	PEP/2	1	"	"
	PGI/1	4	"	"
	PGM/1	3	"	"
	SOD/1	3	"	"
	6PG/1	3	"	"

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	GOT/2	2/3	SHAW & ALLARD (1982)
	G6PD/1	2	" "
	ADH/1	2	" "
	TO/1	3	" "
	EST/1	4	" "
	LAP/2	4/3	" "
	PGM/2	3/4	" "
	PGI/1	3	" "
	PGM/1	4	ADANS (1983)
	PGI/1	3	" "
	LAP/2	3/4	" "
	GOT/1	3	" "
	G6PD/1	3	" "
	6PGD/1	3	" "
	IDH/1	5	" "
	DIA/1	4	" "
	GDH/1	2	NEALE et alii (1984)
	6PGD/1	3	" "
	IDH/1	3	" "
	DIA/1	3	" "
	MDH/1	3	" "
	SKDH/1	3	" "
	PGM/2	3/2	" "
	GLYDH/1	2	" "
	GOT/1	2	" "
	PGI/1	3	" "
	G6PD/1	4	" "

2) Angiospermas

<i>Bertholletia excelsa</i>	AAT/2	1/2	BUCKLEY et alii (1988)
	PGI/2	1/2	" "
	G6PDH/2	1/2	" "
	MDH/3	3/1-2/2	" "
	EST/5	1/2/2/3/2	" "
	LAP/5	1/2/2/2/1	" "
	G3PDH/1	2	" "
	GDH/1	3	" "
	F-EST/4	1/1/2/2	" "
	PGM/2	2/2	" "
	SKDH/2	1/1	" "
	TPI/2	1/1	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Elaeis guineensis</i>	IDH/1	5	SANTOS (1991)
	MDH/2	2/2	" "
	PGD/1	4	" "
	PGI/1	4	" "
	PGM/2	6/4	" "
	SKDH/1	2	" "
	ACP/1	3	" "
<i>Eucalyptus citriodora</i>	ADH/1	4	YKH et alii (1983)
	GDH/1	2	" "
	MDH/1	2	" "
<i>Eucalyptus delegatensis</i>	ADH/1	4	MORAN & BELL (1983)
	APH/3	4/3/4	" "
	GDH/2	3/3	" "
	GOT/3	5/3/3	" "
	IDH/1	2	" "
	LAP/2	3/7	" "
	MDH/2	2/4	" "
	PGI/2	1/7	" "
	PGM/1	4	" "
	6PGD/2	3/3	" "
	SKDH/1	4	" "
<i>Eucalyptus grandis</i>	α -EST/3	1/2/3	PIRES (1983)
	β -EST/3	2/2/3	" "
<i>Eucalyptus obliqua</i>	ADH/2	3/-	BROWN et alii (1975)
	MDH/1	4	" "
	PHOS/1	3	" "
<i>Fagus sylvatica</i>	LAP/1	2	KIM (1979)
	ACP/3	4/2/1	" "
<i>Hevea brasiliensis</i>	LAP/2	5/4	PAIVA (1992)
	MDH/1	3	" "
	SKDH/1	5	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Liriodendron tulipifera</i>	ACPH/2	2/2	BROTSCHOL et alii (1986)
	PER/1	2	" "
	EST/1	5	" "
	GOT/2	4/2	" "
	CAT/1	2	KANASHIRO (1990)
	SOD/2	1/4	" "
	PGI/2	1/3	" "
	GOT/1	3	" "
	MDH/3	3/2/2	" "
	PGM/2	1/4	" "
	TPI/2	1/2	" "
	ACO/1	3	" "
<i>Pithecellobium pedicellare</i>	AAT/1	2	O'MALLEY & BAWA (1987)
	IDH/1	3	" "
	MDH/1	2	" "
	PGDH/1	2	" "
	TPI/1	2	" "
<i>Populus tremuloides</i>	AAT/3	1/1/3	CHELIK & PITEL (1984)
	ACO/2	1/2	" "
	IDH/1	2	" "
	LAP/2	1/2	" "
	PGI/2	1/3	" "
	SKDH/1	2	" "
	6PGD/2	1/2	" "
<i>Prosopis</i> spp.	ADH/2	2/1	SAIDMAN (1986)
	GOT/3	2/2/2	" "
<i>Robinia pseudoacacia</i>	ALD/1	3	SURLES et alii (1989)
	α -GD/1	3	" "
	DIA/3	3/3/2	" "
	IDH/1	4	" "
	6PGD/4	3/3/3/3	" "
	PGI/1	2	" "
	TPI/4	2/1/3/3	" "
	LAP/2	4/5	" "

Tabela A1. (Continuação...)

ESPÉCIES ESTUDADAS	ENZIMAS/ LOCOS	ALELOS/ LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Robinia pseudoacacia</i>	AK/1	4	SURLES et alii (1989)
	F1-6/3	4/3/2	" "
	SKDH/2	3/3	" "
	GDH/1	3	" "
	GOT/2	3/4	" "
	MDH/3	4/2/4	" "
	PGM/3	3/4/3	" "
	PER/4	4/3/4/3	" "
	F-EST/2	4/3	" "
	EST/2	3/3	" "

(1) dados complementares podem ser encontrados em RUDIN (1977) e FALKENHAGEN (1985).

TABELA A2. Quadrados médios entre populações (P); famílias (F/P); indivíduos (I/F/P); genes (G/I/F/P), conforme modelo hierárquico, desbalanceado, para dois alelos do loco IDH, em duas populações naturais de aroeira.

F.V.	G.L.	A L E L O S	
		1	2
Populações	1	0,161608	0,161608
Famílias	49	0,031270	0,031270
Indivíduos	749	0,016216	0,016216
Genes	800	0,002500	0,002500

TABELA A3. Quadrados médios entre populações (P); famílias (F/P); indivíduos (I/F/P); genes (G/I/F/P), conforme modelo hierárquico, desbalanceado, para três alelos do loco AAT-1, em duas populações naturais de aroeira.

F.V.	G.L.	A L E L O S		
		1	2	3
Populações	1	13,023471	10,136220	0,164096
Famílias	49	2,093888	1,246489	0,536837
Indivíduos	947	0,214120	0,151478	0,086664
Genes	998	0,028557	0,052605	0,022545

TABELA A4. Quadrados médios entre populações (P); famílias (F/P); indivíduos (I/F/P); genes (G/I/F/P), conforme modelo hierárquico, desbalanceado, para quatro alelos do loco LAP-2, em duas populações naturais de aroeira.

F.V.	G.L.	A L E L O S			
		1	2	3	4
Populações	1	24,438454	15,618251	1,187646	0,009655
Famílias	49	2,346378	2,339443	1,262422	0,034411
Indivíduos	949	0,175541	0,146142	0,081573	0,009087
Genes	1000	0,162500	0,100500	0,071500	0,008500

TABELA A5. Estimativas médias dos quadrados médios entre populações (P); famílias (F/P); indivíduos (I/F/P); genes (G/I/F/P), conforme modelo hierárquico desbalanceado, obtidas na análise conjunta para locos e alelos, em duas populações naturais de aroeira. (*)

F.V.	G.L.	Q.M.
Populações	7	9,225398
Famílias	343	1,408553
Indivíduos	6.637	0,123490
Genes	6.994	0,063840

(*) Os alelos do loco monomórfico IDH não entraram na análise conjunta.

TABELA A6. Estimativas dos coeficientes K_1 , K_2 e K_3 , obtidos na esperança dos quadrados médios para das análises individuais de cada alelo dentro do loco e da análise conjunta envolvendo três locos e nove alelos, em duas populações naturais de aroeira.

índices	L O C O S			ALELOS e LOCOS (*)
	IDH	AAT-1	LAP-2	
K_1	31,2585	39,1317	39,2101	39,1765
K_2	34,1648	39,2540	39,3409	39,3037
K_3	799,9800	998,7715	998,9760	998,8884

(*) Média ponderada, envolvendo alelos e locos da anava conjunta.

TABELA A7. Estimativas das variâncias entre populações ($\hat{\sigma}_p^2$); entre famílias (F/P), ($\hat{\sigma}_F^2$); entre indivíduos (I/F/P), ($\hat{\sigma}_I^2$); entre genes (G/I/F/P), ($\hat{\sigma}_G^2$); e da variância total ($\hat{\sigma}_T^2$), para nove alelos em três locos, em duas populações naturais de aroeira.

LOCOS/ ALELOS	VARIÂNCIAS				
	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_I^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_T^2$
IDH					
1	0,002500	0,006858	0,000482	0,000161	0,010001
2	0,002500	0,006858	0,000482	0,000161	0,010001
AAT-1					
1	0,028557	0,092781	0,048037	0,010937	0,180312
2	0,052605	0,049436	0,027983	0,008897	0,138922
3	0,022545	0,032059	0,011504	0,000000	0,066108
LAP-2					
1	0,162500	0,006521	0,055364	0,022107	0,246492
2	0,100500	0,022821	0,055937	0,013285	0,192543
3	0,071500	0,005037	0,030116	0,000000	0,106653
4	0,008500	0,000294	0,000646	0,000000	0,009439
ANAVA CONJ. (*)	0,063840	0,029825	0,032802	0,006535	0,133002

(*) o alelo monomórfico IDH não foi considerado na anava conjunta.

TABELA A8a. Comparação entre alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, para as características quantitativas estudadas na população de aroeira de Bauru-SP (Pop. B), estimados aos 3,5 anos, em Selvíria-MS.

CAR.	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_E^2$	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	RF	RP
01	0,5245	0,2239	0,0094	0,1058	55,82	2,34
02	0,1392	0,0119	0,0061	0,0158	22,84	11,69
03	1,8317	0,3637	0,1701	0,3672	10,76	5,04
04	0,0505	0,0119	0,0027	0,0088	18,58	4,25
05	0,001120	0,000488	0,000001	0,000211	-	2,30
06	0,004225	0,001254	0,000043	0,000647	97,46	3,37
07	0,3129	0,1182	0,0147	0,0670	21,31	2,65
08	4,5011	1,3532	0,0481	0,6856	93,57	3,33
09	0,023309	0,012726	0,002053	0,007193	11,35	1,83
10	0,000523	0,000189	0,000056	0,000139	9,39	2,77
11	0,026496	0,012737	0,001402	0,006669	18,89	2,08
12	0,026385	0,007393	0,003419	0,006894	7,72	3,57
13	0,005570	0,002129	0,000400	0,001323	13,92	2,62
14	0,000080	0,000116	0,000000	0,000025	-	0,69
$\bar{X}$	-	-	-	-	31,80	3,47

(*): $\hat{\sigma}_D^2$: estimativa da variância fenotípica entre plantas dentro de famílias; $\hat{\sigma}_E^2$: estimativa da variância do erro; $\hat{\sigma}_P^2$: estimativa da variância genética entre famílias; $\hat{\sigma}_F^2$: estimativa da variância fenotípica entre médias de famílias; RF: relação entre as $\hat{\sigma}_D^2/\hat{\sigma}_P^2$, (5), RP: relação entre as variâncias $\hat{\sigma}_D^2/\hat{\sigma}_E^2$, (6), (-): número divisível por zero.

TABELA A8b. Comparação entre alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, para as características quantitativas estudadas na população de aroeira de Selvíria-MS (Pop. S), estimados aos 3,5 anos, em Selvíria-MS.

CAR.	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_E^2$	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	RF	RP
01	0,5580	0,0926	0,0172	0,0700	32,44	6,02
02	0,1431	0,0111	0,0032	0,0125	44,72	12,89
03	2,1980	0,3767	0,0386	0,2508	56,94	5,83
04	0,0604	0,0124	0,0020	0,0086	30,20	4,87
05	0,001792	0,000341	0,000001	0,000187	-	5,26
06	0,004509	0,000272	0,000000	0,000187	-	16,58
07	0,3769	0,0466	0,0355	0,0658	10,62	8,09
08	4,3869	0,5110	0,2822	0,6251	15,54	8,58
09	0,038160	0,017880	0,006025	0,013494	6,33	2,13
10	0,000929	0,000576	0,000000	0,000216	-	1,61
11	0,023357	0,014919	0,001325	0,007227	17,63	1,56
12	0,029992	0,011355	0,000000	0,003096	-	2,64
13	0,009824	0,001241	0,000000	0,000408	-	7,92
14	0,000112	0,000171	0,000001	0,000063	-	0,65
$\bar{X}$	-	-	-	-	26,80	6,04

(*): $\hat{\sigma}_D^2$: estimativa da variância fenotípica entre plantas dentro de famílias; $\hat{\sigma}_E^2$: estimativa da variância do erro; $\hat{\sigma}_P^2$: estimativa da variância genética entre famílias; $\hat{\sigma}_F^2$: estimativa da variância fenotípica entre médias de famílias; RF: relação entre as $\hat{\sigma}_D^2/\hat{\sigma}_P^2$, (5); RP: relação entre as variâncias $\hat{\sigma}_D^2/\hat{\sigma}_E^2$, (6); (-): número divisível por zero.

TABELA A9. Estimativas da variância entre populações ($\hat{\sigma}_P^2$), entre famílias dentro de populações ($\hat{\sigma}_F^2$), dentro de parcelas ($\hat{\sigma}_D^2$), entre repetições dentro de populações ($\hat{\sigma}_R^2$), obtidas na análise conjunta envolvendo as duas populações de aroeira estudadas, para os caracteres quantitativos, estimados aos 3,5 anos, em Selvíria-MS.

CAR.	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_R^2$
01	-0,023361	0,013216	0,541602	0,104051
02	-0,002134	0,004632	0,141175	0,004888
03	-0,151380	0,104611	2,018442	0,421510
04	-0,002691	0,002258	0,055508	0,007152
05	-0,000017	0,000001	0,001461	0,000112
06	-0,000201	-0,000023	0,004369	0,000762
07	-0,042630	0,025232	0,345545	0,121133
08	-0,442970	0,165292	4,442845	1,354162
09	-0,004007	0,003998	0,030734	0,011236
10	0,000020	0,000021	0,000726	0,000087
11	-0,000405	0,001368	0,024926	0,002565
12	0,000092	0,000767	0,028188	0,008541
13	0,000175	0,000004	0,007697	0,000266
14	-0,000009	-0,000008	0,000096	0,000213

(1) NI: Zona eletroforética onde não foi possível a identificação, precisa, de alelos dentro dos locos AAT-2 e LAP-1

FIGURA 1. Zimogramas dos padrões eletroforéticos, representando nove alelos e três locos dos sistemas enzimáticos analisados e seus respectivos R_m 's obtidos das folhas cotiledonares de duas populações de aroeira, estimados conforme CHELIAK & PITEL (1984).

FIGURA 2. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de folhas cotilidonaes em duas populações de aroeira, para o sistema IDH.

FIGURA 3. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de folhas cotiledonares em duas populações de aroeira, para o sistema AAT.

FIGURA 4. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de folhas cotiledonares em duas populações de aroeira, para o sistema LAP.

Metodologia utilizada no cálculo do peso da matéria seca da copa (PMSC)

- a. determinações do volume da copa de 10 árvores ao acaso, nos testes de progênies, ($VDC = LL \cdot LR \cdot HC$, (2), onde:
 LL = comprimento da copa na linha (m); LR = largura da copa na rua (m); HC = altura da copa (m);
- b. abate das árvores em que foram determinados os "VDC";
- c. determinações do peso verde (pv) dos galhos e folhas que compunham as copas de cada árvore;
- d. retirada de 10% do "pv" da copa, para a determinação do peso da matéria seca (pms);
- e. extrapolação do "pms" para a copa, obtendo-se o peso da matéria seca da copa (pmsc);
- f. determinação da densidade da copa de cada árvore abatida (d_i);
- g. cálculo da densidade média da copa: $\bar{d} = \frac{\sum d_i}{10}$, (3);
- h. cálculo do PMSC utilizando o $\bar{d}$, para cada árvore abatida $PMSC = VDC \cdot \bar{d}$ (4);
- i. correlação "r" entre o PMSC obtido diretamente e o pelo $\bar{d}$, cujo valor foi igual a $r = 0,8948$, o que foi considerado satisfatório;
- j. uso do $\bar{d}$ para a determinação do PMSC em todas as árvores dos testes de progênies.

Representações dos quadrados médios entre populações (QM_p), famílias / populações (QM_f), indivíduos / famílias / populações (QM_i) e genes / indivíduos / famílias / populações (QM_g); dos coeficientes K_1 , K_2 , K_3 , f_i e f_{ij} obtidos das análises de variância no modelo hierárquico desbalanceado, baseando-se em ANDERSON & BANCROFT (1952),

SNEDECOR (1956) e WEIR (1990)

1. Quadrados médios

$$a) C = \frac{Y^2_{\dots}}{n_{\dots}} \quad (33)$$

$$b) QM_p = \frac{\frac{\sum_{i=1}^a Y_{i\dots}^2}{n_{i\dots}} - C}{GL_p} \quad (34)$$

$$c) QM_f = \frac{\left[\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} Y_{ij\dots}^2}{n_{ij\dots}} - \frac{\sum_{i=1}^a Y_{i\dots}^2}{n_{i\dots}} \right]}{GL_f} \quad (35)$$

$$d) QM_i = \frac{\left[\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} \sum_{k=1}^{c_{ij}} Y_{ijk\dots}^2}{n_{ijk\dots}} - \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} Y_{ij\dots}^2}{n_{ij\dots}} \right]}{GL_i} \quad (36)$$

$$e) QM_o = \frac{\left(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl}^2 - \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c Y_{ijk}^2}{n_{ijk}} \right)}{GL_o} \quad (97)$$

$$f) SQ_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl}^2 - C \quad (98)$$

onde:

$$n_{ijk} = 2 \text{ (número de genes por indivíduos)} \quad (99)$$

$$n_{ij.} = \sum_{k=1}^{c_{ij}} n_{ijk} \quad (40)$$

$$n_{i..} = \sum_{j=1}^{b_i} \sum_{k=1}^{c_{ij}} n_{ijk} \quad (41)$$

$$n_{...} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} \sum_{k=1}^{c_{ij}} n_{ijk} \quad (42)$$

$$Y_{ijk.} = \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl} \quad (43)$$

$$Y_{ij..} = \sum_{k=1}^{c_{ij}} \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl} \quad (44)$$

$$Y_{i....} = \sum_{j=1}^{b_i} \sum_{k=1}^{c_{ij}} \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl} \quad (45)$$

$$Y_{....} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} \sum_{k=1}^{c_{ij}} \sum_{l=1}^{n_{ijk}} Y_{ijkl} \quad (46)$$

2. Coeficientes

$$a) K_1 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} n_{ij}^2 \cdot f_{ij} \quad (47)$$

$$b) K_2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^{b_i} n_{ij}^2 \cdot f_i \quad (48)$$

$$c) K_3 = \sum_{i=1}^a n_{i..}^2 \cdot f_i \quad (49)$$

onde:

$$f_{ij} = \frac{\frac{1}{n_{ij}} - \frac{1}{n_{i..}}}{\sum_{i=1}^a b_i - a} \quad (50)$$

$$f_i = \frac{\frac{1}{n_{i..}} - \frac{1}{n_{...}}}{a - 1} \quad (51)$$