DIVERSIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS EM POPULAÇÕES
NATURAIS DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* Freire, F. & M.F.
Allemão) ANACARDIACEAE NO SEMI-ÁRIDO

CRISTINA MARIA BATISTA DE LACERDA
Engenheira Florestal

Orientador: Prof. Dr. PAULO YOSHIO KAGEYAMA

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", para obtenção do título
de Mestre em Ciências - Área de
Concentração: Ciências Florestais

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1997

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Lacerda, Cristina Maria Batista de

Diversidade genética por isoenzimas em populações naturais de aroeira
(*Myracrodruon urundeuva* Freire, F. & M.F. Allemão) anacardiaceae no semi-árido /
Cristina Maria Batista de Lacerda. - - Piracicaba, 1997.

96 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Aroeira 2. Diversidade genética 3. Isoenzima 4. Região nordeste 5. Semi-árido
I. Título

CDD 634.97328

**DIVERSIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS EM POPULAÇÕES
NATURAIS DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* Freire, F. & M.F.
Allemão) ANACARDIACEAE NO SEMI-ÁRIDO**

CRISTINA MARIA BATISTA DE LACERDA

Aprovado em: 13/01/1998

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama	CIC: 028693149-49	ESALQ/USP
Prof. Dr. Roland Vencovsky	CIC: 015935608-34	ESALQ/USP
Prof. Dr. Mário Luiz Teixeira de Moraes	CIC: 020639598-11	FEIS/UNESP

Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama
Orientador

"Existem duas fontes perenes de alegria pura: o bem realizado e o dever cumprido"

Dedico este trabalho à:

Mãe Natureza (fonte de inspiração)

Francisca (mãinha)

Onilva (madrinha)

D. Célia (um exemplo)

Ligia, Rosana e Silvana (irmãs)

Ivonete (uma grande amiga)

Cammyla (sobrinha)

Sérgio, Henrique, Marcílio e Márcio (irmãos)

Ofereço:

Ao meu pai Olosvaldo (in memorian)

"O melhor conselho que se possa dar a um semelhante é o bom exemplo".

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e por guiar todos os passos da minha caminhada;

Ao Prof. Dr. Paulo Y. Kageyama pela orientação deste trabalho, ensinamentos, amizade e convivência;

Ao Prof. Dr. Mário L. T. Moraes pela discussão e revisão do manuscrito e pela grande amizade;

Ao Prof. Dr. Roland Vencovsky pelo brilhantismo em transmitir seus conhecimentos em princípios e conceitos de genética e pela participação da banca examinadora dessa Dissertação;

Ao Departamento de Ciências Florestais/ESALQ/USP (professores e funcionários) pela oportunidade de realização do treinamento;

À CAPES pela concessão da bolsa;

A CAVE pela moradia cedida durante o mestrado;

A Estação Ecológica do Seridó-RN/IBAMA e ao Proprietário do Sítio Mata dos Alves-PB por terem permitido o desenvolvimento do trabalho de campo;

Aos meus queridos pais e irmãos, pelo amor e carinho;

Aos meus avós, tios e primos que mesmo distantes me apoiaram;

Ao João Macedo pelas observações fenológicas e pelo companheirismo durante as atividades de campo;

Ao Sr. Severino, Sr. Antônio, Marcílio, Carminha, Robério e Josemário pela ajuda no campo (mapeamento, coleta e beneficiamento das sementes);

Ao Departamento de Engenharia Florestal - Campus VII/Patos/PB, em especial aos professores: Eder Arriel, Olaf Bakke, Maria do

Carmo Learth, Paulo Basto que não mediram esforços para me ajudarem sempre que precisei;

Aos amigos e “co-autores”, Flávio, Alexandre, Eduardo, Helena, Lina, Maurício, Nadja, agradeço em todas as fases deste trabalho, pelos seus auxílios nos programas, nas discussões, nas decisões necessárias, sempre disponíveis. Sem eles, este trabalho seria muito mais complicado;

A Elza M. Ferraz, Gelson D. Fernandes e Veridiana O. dos Santos pela grande contribuição no laboratório durante a eletroforese, pela amizade e ajuda constantes;

A todos os amigos, aqueles que foram verdadeiros companheiros, pela convivência agradável, não vou citar nomes, porque graças a Deus são muitos;

Ao Joaquim e a Cida pela amizade, apoio e por terem sido minha primeira família em Piracicaba;

A grande amiga sempre presente, mesmo que longe, Ivonete Alves Bakke pelo apoio constante;

Aos meus baixinhos Maristela, Matheus e Nathalia que com um simples sorriso me faziam esquecer as dificuldades e acreditar num Mundo melhor;

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para esta importante etapa da minha formação.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO.....	vi
RESUMO.....	viii
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Estrutura genética de populações naturais.....	4
2.2. Taxa de cruzamento.....	5
2.3. Fluxo gênico.....	6
2.4. Eletroforese de isoenzimas.....	8
2.5. Considerações sobre a espécie em estudo	10
2.6. A Região Semi-Árida.....	11
2.6.1 Clima.....	12
2.6.2 Relevo e solos	13
2.6.3 Vegetação.....	14
2.6.3.1 Ajustamento ecológico	14
3. METODOLOGIA.....	16
3.1. Local de estudo e coleta de material	16
3.2. Análises isoenzimáticas.....	18
3.2.1. Procedimentos de extração.....	18
3.3. Análise estatística	21
3.3.1 Frequência alélica.....	21
3.3.2 Índices de diversidade genética.....	22

3.4. Análise da estrutura genética	24
3.4.1. Diversidade gênica de Nei	24
3.4.2. Estatísticas F de Wright	25
3.4.3. Sistema reprodutivo	26
3.4.3.1. Aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e de endogamia de Wright	26
3.4.3.2. Taxa de cruzamento	28
3.4.3.3. Taxa de cruzamento multilocos e unilocos	28
3.4.3.4. Diferença nas freqüências alélicas entre pólen e óvulo	29
3.5. Distribuição espacial dos genótipos	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Levantamento das populações	33
4.2. Análise genética dos zimogramas	36
4.3. Freqüência alélica	39
4.4. Diversidade genética	42
4.5. Sistema reprodutivo	46
4.6. Taxa de cruzamento	49
4.7. Estatísticas F	55
4.8. Estrutura espacial dos genótipos	58
5. CONCLUSÕES	65
BIBLIOGRAFIA	67
ANEXOS	75

DIVERSIDADE GENÉTICA POR ISOENZIMAS EM POPULAÇÕES NATURAIS
DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* - Freire, F. & M.F. Allemão)
ANACARDIACEAE - NO SEMI-ÁRIDO

Autora: Cristina Maria Batista de Lacerda
Orientador: Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama

RESUMO

A aroeira (*Myracrodruon urundeuva* - Freire, F. & M.F. Allemão - 1862) pertence à família Anacardiaceae, dióica, grupo sucessional das secundárias tardias. Devido à sua grande exploração pela indústria madeireira (produção de madeira serrada, roliça, estacas, moirões, carvão, lenha), a aroeira se encontra na lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. A destruição de habitats pode causar grandes perdas de variabilidade genética para as espécies florestais.

Visando a quantificar a variação genética, o sistema reprodutivo e a estrutura genética espacial de *M. urundeuva* no semi-árido nordestino, foram estudadas duas populações naturais com baixa densidade na área de estudo e distribuição agrupada, com a finalidade de detectar a existência de variações genéticas associadas com o grau de perturbação antrópica. Uma das populações pode ser considerada "com pouca perturbação" antrópica (ou seja área "primária"), e está localizada na Estação Ecológica do Seridó-RN/IBAMA (E.E.S.) de 1166,38 ha. A outra é a população fragmentada (área secundária), localizada no Sítio Mata dos Alves-PB (S.M.A.), área de 84 ha.

Plântulas de 14 famílias com idade entre 7 a 10 dias e folíolos de 30 indivíduos adultos por população foram analisados, utilizando-se a técnica da eletroforese de isoenzimas, em gel de penetrose de milho (13%), com

tampão Citrato/Morfolina (eletrodo: Ác. cítrico 8,4 g/l - titular com Morfolina até pH 6.10; gel: diluição 1:20 do eletrodo). Foram utilizados os seguintes sistemas enzimáticos: Fosfoglucomutase (PGM), Fosfoglucose isomerase (PGI), 6-Fosfogluconato desidrogenase (6-PGDH), Malato desidrogenase (MDH), Glutamato-oxaloacetato-transaminase (GOT), Leucina aminopeptidase (LAP) e α -Esterase (α -Est). Foram analisados 8 locos para os indivíduos adultos e 12 locos para as progênies.

Através das estimativas dos índices de diversidade foi possível observar uma baixa heterozigosidade média esperada nos adultos ($\hat{H}_e = 0,057$ -E.E.S. e $\hat{H}_e = 0,093$ -S.M.A.) e progênies ($\hat{H}_e = 0,054$ -E.E.S. e $\hat{H}_e = 0,073$ -S.M.A.). Em média 12,5%-E.E.S. e 25,0%-S.M.A. dos locos foram polimórficos para os indivíduos adultos e 8,3% e 16,67% para as progênies, baixo número de alelos por locos variando de 1,3 a 1,8. Índice de fixação negativo para as populações ($\hat{f} = -0,333$ -E.E.S. e $-0,301$ -S.M.A.); negativo ($\hat{f} = -0,019$ -E.E.S.) e positivo ($\hat{f} = 0,123$ -S.M.A.) para as progênies, indicando equilíbrio de Hard-Weinberg para os $\hat{f}$ negativos.

As taxas de cruzamentos multilocos igual a $\hat{t}_m = 1,050(0,08)$ e a média dos locos individuais de $\hat{t}_s = 0,518(0,17)$ na E.E.S. e $\hat{t}_m = 0,815(0,04)$ e $\hat{t}_s = 0,340(0,14)$ no S.M.A. A diferença entre a taxa de multilocos e unilocos indica o percentual de ocorrência de endogamia decorrente do cruzamento entre indivíduos aparentados.

A estimativa dos índices de fixação dentro da população foi de $\hat{F}_{IS} = -0,309$; para a espécie $\hat{F}_{IT} = -0,289$; e uma medida de diferenciação entre as populações de $\hat{F}_{ST} = 0,015$ para os indivíduos adultos e $\hat{F}_{IS} = 0,064$, $\hat{F}_{IT} = 0,077$ e $\hat{F}_{ST} = 0,014$ para as progênies, mostrando ausência de endogamia nos adultos e baixa endogamia nas progênies.

A quantificação da diversidade genética obtida para os indivíduos adultos e as progênies indicou baixa variabilidade dentro e pequena divergência entre as populações.

Nas populações estudadas não foi detectada a presença de estruturação espacial, sugerindo, dessa forma, uma distribuição aleatória dos genótipos dentro delas.

Os resultados obtidos no presente estudo, possibilitarão, a formação de um ponto de auxílio para a conservação da espécie, a produção de sementes e a coleta de germoplasma. Contribuirá, dessa forma, para a manutenção dos atuais núcleos de florestas “primárias” e recuperação das áreas degradadas.

ISOZYME GENETIC DIVERSITY IN NATURAL POPULATIONS OF AROEIRA
(*Myracrodruon urundeuva* - Freire, F. & M.F. Allemão) ANACARDIACEAE - IN
THE SEMI-ARID REGION OF BRAZIL

Author: Cristina Maria Batista de Lacerda

Adviser: Paulo Yoshio Kageyama, Phd.

SUMMARY

Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Freire F. & M.F. Allemão - 1862) is a tree species of the Anacardiaceae family; it is dioecious, belonging to the late secondary tropical forest successional group. Because it has been overexploited for its wood products (sawed wood, roundish wood, stake, charcoal, firewood), the species is included in the official list of endangered species of the Brazilian flora. The destruction of habitats can cause great genetic variability losses to forest species.

Aiming to the quantification of the genetic variation, the reproductive system and the spatial structure of *M. urundeuva* in the semi-arid region of Northeastern Brazil, two natural populations with low density of individuals and clustered distribution were studied in search for the variations caused by human impact. The population with low human impact ("primary" area) is located in the Seridó Ecological Station (S.E.S.) - Rio Grande do Norte State, which has 1166.38 hectares and the disturbed population ("secondary" area) in the Mata do Alves Farm (M.A.F.) - Paraíba State, with 84 hectares.

Seven to ten year-old seedlings of 14 families 7 to 10 days old and leaves of 30 adult individuals per population were analysed by the isoenzyme electrophoretic technique, in maize penetrose (13%) gel, using morpholine

citrate buffer (Electrode: 8,4 g/l of citric acid, titulated with morpholine until pH 6.10 and Gel: in dilution 1:20 of the electrode).

The following enzymatic systems were used: Phosphoglucumutase (PGM), Phosphoglucisomerase (PGI), 6-Phosphoglucumate dehydrogenase (6-PGDH), Malate dehydrogenase (MDH), Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), Leucine aminopeptidase (LAP) and α -Esterase (α -Est). 8 loci were analysed for the adults and 12 loci for the progenies.

The average estimated heterozigosity revealed low levels for both adults ($\hat{H}_e = 0.057$ -S.E.S. and $\hat{H}_e = 0.093$ -M.A.F.) and progenies ($\hat{H}_e = 0.054$ -S.E.S. and $\hat{H}_e = 0.073$ -M.A.F.). The percentage of polymorphic loci ranged from 12.5%-S.E.S. to 25.0%-M.A.F. in adult individuals and from 8.3%-S.E.S. to 16.67%-M.A.F. in progenies. The mean number of alleles per locus was low and ranged from 1,3 to 1,8. The fixation indices ($\hat{f}$) were -0.333 (S.E.S.), and -0.301 (M.A.F.) for the adults and -0.019 (S.E.S.) and 0.123 (M.A.F.) for the progenies.

The multiloci outcrossing rates were $\hat{t}_m = 1.050$ (0.08) and mean single loci $\hat{t}_s = 0.518$ (0.17) for S.E.S. and $\hat{t}_m = 0.815$ (0.04) and $\hat{t}_s = 0.340$ (0.14) in M.A.F. The difference between $\hat{t}_m$ and $\hat{t}_s$ indicates the percentual of inbreeding occurring due to crossing between related individuals.

The estimate of the fixation indices were: $\hat{F}_{IS} = -0.309$ (within populations); $\hat{F}_{IT} = -0.289$ (for the species) and $\hat{F}_{ST} = 0.015$ (measure of differentiation between populations) for adults and $\hat{F}_{IS} = 0.064$, $\hat{F}_{IT} = 0.077$ and $\hat{F}_{ST} = 0.014$, for progenies.

The quantification of the genetic diversity obtained for adult individuals and progenies, pointed to a great variation within populations and small divergence between them.

No spatial structure was detected in any population studied, suggesting a random distribution of genotypes within both populations showing that the gene flow is wide enough to prevent the formation of structures due to drift or selection effects.

The results obtained will give support to the conservation of the species, seed production and collection of germplasm, thus contributing to the maintenance of the current primary forest and recovery of the exploited areas.

1. INTRODUÇÃO

A História vem mostrando que, desde as primeiras civilizações, há uma permanente exploração dos recursos naturais pelo homem. Inicialmente, esses recursos possuíam uma capacidade de regeneração natural e acompanhavam o ritmo lento da demanda pelo homem. Com o crescimento populacional do homem, essa regeneração, entretanto, não conseguiu mais acompanhar o ritmo desenfreado da exploração madeireira, resultando, assim, no desaparecimento de espécies, na desertificação, mudanças climáticas, poluição do ambiente, e outras conseqüências.

Segundo Inoue (1992), as alterações provocadas na biosfera pela atividade antrópica podem ser diretas e/ou indiretas. A ação direta está representada pelo desmatamento, exploração de recursos do subsolo, urbanização e industrialização. Da outra forma, os efeitos podem ser sentidos pelos impactos oriundos da poluição ambiental, doenças surgidas da criação de agentes mutagênicos e suscetibilidade causadas por mudanças climáticas, etc.

No nordeste brasileiro, a extração de espécies como aroeira, pau-brasil e outras com utilidades nobres, adicionada ao cultivo desenfreado da cana-de-açúcar, têm contribuído para a diminuição da biodiversidade das regiões semi-áridas. A conseqüência dessa ação reverte-se na má aclimação da população do semi-árido, resultado direto da falta de água e baixa produtividade da terra. Isso tem acarretado um acelerado processo de desertificação em quase toda área dessa região semi-árida. Esse processo é provocado por uma erosão característica. Com toda essa desestruturação

ambiental tem-se a modificação do microclima, o assoreamento dos rios e vales, a baixa fertilidade do solo e, como perda maior, a redução da biodiversidade.

Diante destas constatações, fica clara a necessidade de interceptação na degradação ambiental, para que se mantenham os atuais núcleos de florestas "primárias" com a sua biodiversidade natural, melhorar qualitativamente a composição das atuais formações florestais secundárias e recuperar as áreas degradadas.

Devido à grande diversidade de espécies florestais, o que torna impossível estudá-las, espécies modelos são escolhidas e, através do estudo de sua estrutura genética, tem-se idéia da *erosão genética* que o ecossistema vem sofrendo e, conseqüentemente, da perda da biodiversidade.

A aroeira (*Myracrodruon urundeuva* - Freire, F. & M.F. Allemão - 1862), ferramenta deste estudo, foi escolhida como modelo de espécie rara (baixa densidade). Além disso, sua madeira, de grande durabilidade natural - sendo considerada a mais resistente do Brasil - vem sendo extraída em grande quantidade das florestas naturais, colocando a aroeira na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (categoria vulnerável).

Deste modo pretendeu-se, com este trabalho, obter informações sobre a estrutura genética de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* no semi-árido brasileiro. Para tanto, as etapas do presente trabalho foram:

- a) quantificação da estrutura genética em populações de aroeira;
- b) estimativa da probabilidade máxima da taxa de cruzamento multilocos (MLT) para a fecundação cruzada em populações de aroeira;
- c) estimativa do fluxo gênico entre populações de aroeira;
- d) estimativa de estruturação genética espacial.

Trabalhou-se, ainda, a partir da seguinte hipótese: a população fragmentada da aroeira (área secundária) apresentaria uma alteração na estrutura genética e no sistema reprodutivo em relação à população "com pouca perturbação" antrópica (área "primária").

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estrutura genética de populações naturais

A variação genética em populações naturais está estruturada no tempo e no espaço. Essa estrutura pode ser observada em populações geograficamente distintas. Embora o conceito de *estrutura genética* tenha sido usado de várias maneiras, Loveless & Hamrick (1984) limitaram sua definição para a *distribuição não casual de alelos ou genótipos no espaço ou no tempo*, desprezando, assim, a organização do genoma e dos processos meióticos que podem também afetar as frequências alélicas e genotípicas. Devido à mobilidade limitada das plantas, sua estrutura genética ou envolve a estrutura espacial ou distribuição física dos indivíduos. Dessa maneira, modelos genéticos e espaciais são frequentemente assumidos como resultados da heterogeneidade ambiental e pressão de seleção diferencial.

O desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética da população se dá devido à interação de uma série de fatores evolutivos complexos, como a variação no conjunto gênico e a organização desta variação dentro do genótipo; a distribuição espacial do genótipo; o sistema reprodutivo que controla a maneira de gametas se unirem para formar as progênes, e a dispersão dessas progênes; e outros eventos casuais. Podemos citar, ainda, os processos de crescimento, mortalidade e reposição (recrutamento) em que vê à tona a origem das futuras populações (Burley, 1976; Clegg et al., 1978; Levin, 1978 *apud* Hamrick & Loveless, 1989). Logo, é a estrutura genética que reflete os processos históricos da população (sistema

de reprodução, modo de reprodução, ciclo de vida, fenologia, etc.) (Tabela 1 dos ANEXOS).

Os sistemas de reprodução têm sido identificados como os fatores de maior influência na estrutura genética. A depressão endogâmica, então, será um indicador importante para se entender a evolução desses sistemas. A endogamia não depende exclusivamente da autopolinização, pois uma população de tamanho pequeno, com exocruzamento, também pode causá-la (Hamrick & Loveless, 1989). O movimento de genes *dentro* e *entre* populações de plantas é, então, dado pela dispersão de sementes a partir da planta-mãe e pelo movimento de pólen entre indivíduos. Ambos os mecanismos podem influenciar o tamanho efetivo da vizinhança das espécies (Hamrick & Loveless, 1986). Portanto, a variabilidade genética será o resultado de interações complexas entre os aspectos da história de vida das populações, as condições ambientais locais e a ecologia da espécie (Barrett e Kohn, 1991).

Como visto, para espécies com pequenas populações, reprodução vegetativa e limitada dispersão de pólen e sementes, é esperado que haja pouca variação genética *dentro* dessas populações e relativamente mais variação *entre* essas populações. Da mesma forma, espécies com limitada distribuição, formando colônias, devem ter, também, altos níveis de variação interpopulacional (Moraes, 1992).

2.2 Taxa de cruzamento ($\hat{t}$)

O sistema de cruzamento é o modo de transmissão dos genes de uma geração para outra (Brown, 1990 *apud* Torggler, et al. 1995); sua determinação permite conhecer os padrões de parentesco entre os indivíduos que se cruzam dentro de uma mesma população (Ritland, 1986 *apud* Torggler, et al. 1995). Segundo Bawa (1974), as espécies tropicais exibem

complexos padrões de florescimento e sistema reprodutivo. A polinização se dá quase exclusivamente por animais, desde grandes morcegos até minúsculas vespas (Bawa et al., 1985), sendo que a maioria das espécies apresenta, ainda, fertilização cruzada devido à incompatibilidade ou dioícia (Bawa, 1974; Muraswski & Hamrick, 1991).

Uma variedade de procedimentos tem sido desenvolvida para estimar a taxa de cruzamento ($\hat{t}$) em plantas. Para o estudo do sistema reprodutivo de espécies vegetais a biologia floral e ecologia da polinização, bem como a estimativa da taxa de cruzamento através de marcadores isoenzimáticos, têm sido utilizadas. Tais estimativas ou vêm sendo obtidas computando-se os coeficientes de endogamia ($\hat{f}$) e relacionando-os com a taxa de cruzamento aparente ($\hat{t}_a$) (Vencovsky, 1992; Weir, 1990), ou através do método de máxima verossimilhança (Ritland & Jain, 1981). Supondo que a autofecundação seja o único fator que afeta a endogamia, que os marcadores genéticos sejam seletivamente neutros e que o reservatório de pólen seja homogêneo para toda a população, podemos dizer que seja possível obter uma estimativa da probabilidade máxima da taxa de cruzamento para um loco (Bawa & O'Malley, 1987).

2.3 Fluxo gênico

O fluxo gênico em plantas ocorre através do movimento de grãos de pólen e/ou sementes (Levin & Kerster, 1974). O fluxo gênico realizado via pólen depende do movimento do pólen até o estigma receptivo (fluxo gênico potencial) e eventos pós-polinização que afetam a fertilização. O movimento do pólen não depende somente do polinizador, mas também da extensão pela qual o pólen é transportado.

Existem dois métodos indiretos que podem ser usados para estimar níveis de fluxo gênico entre populações (Slatkin, 1987). Um deles é

através da estatística de Wright's para estimar a variância padronizada (estandarizada) das frequências alélicas entre populações locais, $\hat{F}_{ST}$. Se existem somente dois alelos em um loco,

$$\hat{F}_{ST} = \sigma^2/p(1-p)$$

em que p é a frequência média entre alelos e σ^2 é a variância de cada alelo.

Wright (1931) mostrou que para alelos neutros:

$$\hat{F}_{ST} \approx 1/(1 + 4Nm)$$

em que N é o tamanho da população local e m é a taxa média da imigração considerando o modelo de ilha.

O valor de Nm pode ser estimado a partir do $\hat{F}_{ST}$:

$$\hat{Nm} = (1/\hat{F}_{ST} - 1)/4$$

Uma das razões para se estimar o $\hat{Nm}$ é que sua estimativa indica a importância relativa do fluxo gênico e da deriva genética. A deriva genética resultará em diferenciação local se $\hat{Nm} < 1$ mas não se $\hat{Nm} > 1$.

O outro método para estimar o $\hat{Nm}$ é o de Slatkin (1987), baseado no fato de que a frequência média de alelos encontrados em uma única população é uma função simples de $\hat{Nm}$: $\ln[p(1)] \approx a \ln(\hat{Nm}) + b$, em que $p(1)$ é a frequência média dos alelos encontrados em uma população amostrada e a e b são constantes que dependem do número de indivíduos amostrados por população.

Ambos $\hat{F}_{ST}$, antes demonstrados, e alelos raros têm as mesmas propriedades desejáveis como indicadores do nível de fluxo gênico.

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

a) O modelo “continente-ilha”, no qual efetivamente existe um movimento unidirecional de uma população grande para uma outra menor e/ou isolada;

b) o modelo de “ilha”, no qual a migração ocorre ao acaso entre um grupo de pequenas populações;

c) o modelo de “alpondras” (ou “stepping-stone”), no qual cada população troca migrantes entre populações vizinhas;

d) o modelo de “isolamento por distância”, no qual o fluxo gênico ocorre entre grupos vizinhos, em uma população de distribuição contínua.

2.4 Eletroforese de isoenzimas

Estudos que comparam a estrutura genética populacional, de remanescentes florestais de diferentes tamanhos e graus de perturbação são fundamentais para o reconhecimento da perda genética real, fornecendo diretrizes para o uso racional dos recursos naturais, bem como alternativas para a conservação dos ecossistemas naturais.

Segundo Kageyama (1987), a tentativa de sistematização da avaliação da diversidade nas populações naturais de espécies de plantas usando técnicas avançadas, incluindo a eletroforese de isoenzimas, tem permitido uma melhor interpretação da estrutura genética das populações e, em consequência, avanços na tentativa de propor metodologias que satisfaçam o mínimo dos princípios de amostragem genética das mesmas.

A eletroforese de isoenzimas tem sido usada com êxito na quantificação da diversidade genética, taxa de cruzamento, taxa de endogamia e fluxo gênico em populações de espécies arbóreas tropicais (Hamrick & Loveless, 1986; O'Malley & Bawa, 1987). As três medidas mais comumente usadas para estimar a diversidade genética são: o *nível médio de heterozigose* (H); a *proporção de locos polimórficos* (P) e o *número médio de alelos por loco* (A) (Bawa & Krugman, 1986).

O uso de isoenzimas para descrever a distribuição da variação genética tem, segundo Hamrick (1983), muitas vantagens:

- a) a herança alozímica pode ser facilmente demonstrada;
- b) a maioria dos locos alozímicos são codominantes e as freqüências alélicas podem ser estimadas sem a necessidade de cruzamento;
- c) as variações genéticas podem ser comparadas diretamente entre populações ou espécies.

Segundo Paiva (1992), a nitidez e a eficiência da eletroforese de isoenzimas dependem fundamentalmente da composição do meio e dos tampões através dos quais as moléculas devem passar. A técnica é bastante simples e aplicável a qualquer tipo de planta, podendo revelar grande número de locos e alelos. O material necessário para obtenção dos zimogramas é relativamente barato, o processo não destrói a planta estudada, além de permitir o exame das plantas no estágio de plântulas, o que é vantajoso no caso do estudo de plantas perenes.

Kageyama (1990), em comparação aos ensaios de progênes de campo (no qual não se determina quantos e quais locos são polimórficos na população, pois o caráter é controlado por muitos genes analisados conjuntamente), aponta que a vantagem da eletroforese de isoenzimas (através da qual é possível estudar um gene, bem como a expressão de um conjunto gênico da população), está no fato de os estudos podem ser desenvolvidos em espaço de tempo menor, com custo menor e com baixo efeito ambiental.

Os ensaios de campo se relacionam com a representatividade das populações (seu tamanho, modo de reprodução, dispersão de sementes e pólen), que influenciam diretamente o tamanho efetivo da mesma. Do ponto de vista de genética de populações, essa representatividade vem sendo ameaçada através da erosão genética causada pelas depredações humanas, o que poderá ser detectada através de estudos de diversidade genética, utilizando-se da eletroforese de isoenzimas.

2.5 Considerações sobre a espécie em estudo

Myracrodruon urundeuva - Freire, F. & M.F. Allemão - 1862 - (aroeira) pertence à família Anacardiaceae, dióica, caracterizada como secundária tardia, decídua, que inicia a derrubada das suas folhas nos meses de junho-julho (estas com mudança de coloração verde para amarelada, tornando-se aos poucos, róseo-avermelhada). A queda total da folhagem e o início da floração vão do final de julho até setembro, respectivamente. Os primeiros frutos amadurecem no final de agosto e início de setembro, estendendo o período de frutificação até outubro quando, então, as folhas jovens já estão se desenvolvendo (Pio-Corrêa, 1926; Rizzini, 1971; Silva, 1978; FAO, 1986; Santin, 1989). A espécie é amplamente distribuída, ocorrendo desde a região Nordeste, nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Alagoas, atravessando Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, avançando até a Argentina e o Paraguai. Resumindo: vai das formações mais secas e abertas (Caatinga e Cerrado), até as muito úmidas e fechadas (Florestas tropicais) (Florsheim, 1992).

A aroeira, nas formações florestais em que ocorre, aparece associada a *Piptadenia* spp e *Chorisia speciosa*, sendo que, nas florestas secundárias, ela pode ocorrer em "stands" quase puros, com plantas de diferentes idades (FAO, 1986).

Atualmente, a aroeira é pouco encontrada na região Centro-Sul, especialmente no estado de São Paulo, onde não é mais possível encontrá-la em grandes proporções em seu estado silvestre, a não ser em pequenas reservas particulares ou governamentais. É uma espécie bastante agredida pela ação destrutiva do homem na região Centro-Oeste e em franca erosão genética na região Nordeste (Medeiros, 1996).

Dentre as principais pragas e doenças, a madeira sofre ataque de coleóbroca, cujo coleóptero, responsável pelas perfurações comuns em postes, é o *Brasiliannus bacordairei* (Carvalho, 1994).

Além de servir para madeira serrada e roliça, a aroeira produz energia (carvão e lenha de boa qualidade), resina e substâncias tanantes. A aroeira é usada, também, como planta medicinal, planta ornamental, apícola, forrageira e para reflorestamento ambiental.

2.6 A Região Semi-Árida

O Semi-Árido nordestino compreende uma imensa área de mais de um milhão de quilômetros quadrados, que corresponde a mais ou menos três quartos da Região Nordeste e a um pouco mais de 10% da superfície brasileira. Compreende oito dos nove Estados do Nordeste (Piauí, Ceará, Sergipe, Rio Grande Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Bahia) e uma pequena parte do norte do estado de Minas Gerais. Apenas o estado nordestino do Maranhão não apresenta áreas semi-áridas (Mendes, 1992).

A Região Semi-Árida do Nordeste brasileiro, por ser muito vasta, pobre, populosa, e por possuir ecossistemas frágeis, altamente vulneráveis à degradação, deve ser reflorestada com plantas xerófilas. Esse reflorestamento deve ser voltado prioritariamente para o desenvolvimento rural e para o controle da desertificação.

Devido às deficiências relacionadas ao clima e ao solo regionais, a produtividade madeireira, para fins de produção de celulose, é limitada. Isso não impede, porém, o reflorestamento com essências perenifólias xerófilas de fins múltiplos, tais como certas frutíferas, forrageiras e produtoras de matérias-primas industriais como óleo, cera, borracha, resinas, tanino, cosméticos, fármacos, fibras e outras (Mendes, 1992). Esse tipo de planta faz parte do grande grupo de vegetais que ocupa uma grande área geográfica do planeta, encontrando-se, entre elas, numerosas plantas de interesse ecológico e

econômico. Esse grupo povoa uma área de 20 milhões de km², espalhados por 49 países dos cinco continentes e que representam 55% das terras agricultáveis do planeta. Especificamente no Brasil, as plantas xerófilas garantem a presença vegetal em pelo menos 1 150 662 km², correspondentes a 74,3% da área do Nordeste e 13,52% da superfície do Brasil, áreas essas formadoras do Polígono da Seca (Duque, 1980).

As plantas xerófilas representam, para as zonas áridas e semi-áridas as únicas fontes vegetais produtoras de energia. São elas que asseguram as condições mínimas de sobrevivência da fauna silvestre e dos animais domésticos das zonas secas (Duque, 1980). Isto posto, podemos dizer que o semi-árido nordestino possui grande número de plantas com potencialidades economicamente exploráveis.

2.6.1 Clima

A região semi-árida possui um regime pluviométrico que delimita duas estações bem distintas: uma curta estação chuvosa, de 3 a 5 meses, denominada "inverno", que ocorre no primeiro semestre do ano, e uma longa estação seca denominada "verão", que tem duração de 7 a 9 meses, podendo-se alongar, nos anos de seca, por 18 meses ou mais. As chuvas são, geralmente, torrenciais e irregulares (fato que periodicamente provoca a ocorrência de secas prolongadas) no tempo e no espaço,. Apesar de apresentar uma pluviosidade não muito baixa (500 mm anuais, em média), o balanço hídrico é altamente deficitário, principalmente em virtude da elevada evaporação. A intensa evaporação alcança uma média de 2000 mm por ano, que decorre do forte aquecimento do solo causado pelo calor solar que, além de influir diretamente sobre a evaporação, age também indiretamente através do deslocamento de ar que provoca, originando ventos quentes, secos e de elevadas velocidades médias (15 a 25 km/h) (Mendes, 1992).

O Polígono das Secas é, então, uma das regiões mais quentes do globo. A temperatura média é mais ou menos constante ao longo do ano e relativamente uniforme em toda a região. As médias térmicas anuais oscilam entre 23°C a 27°C. A amplitude média térmica diária é próxima de 10°C, mantendo-se inalterada, tanto ao longo das latitudes como em relação ao nível do mar. A luminosidade média anual é muito elevada, em torno de 2800 horas de luz solar por ano. A umidade do ar atinge média anual próxima de 50% (Mendes, 1992).

2.6.2 Relevo e solos

As serras do semi-árido são áreas com altitudes superiores a 600m e inferiores a 1000 m. Com relação à direção predominante dos ventos, as serras da região podem ser classificadas em serras úmidas e secas. As serras úmidas são aquelas que recebem chuvas orográficas, provocadas pelos ventos úmidos que se resfriam pela altitude e se precipitam (Mendes, 1992). Durante o período seco anual (verão), as serras úmidas apresentam-se como verdadeiros “oásis” em relação à caatinga caducifólia e seca circundante. A vegetação natural é de porte alto. Não há perda de folhas durante a época do estio anual, ao contrário das serras secas com sua caatinga caducifólia, temperaturas mais elevadas e uma maior insolação em relação às serras úmidas.

De maneira geral os solos são rasos, pedregosos ou arenosos, o que depende de a região semi-árida ser cristalina ou sedimentar. Essa região possui mais ou menos 50% de sua área sedimentar (solos arenosos) e 50% cristalina (solos pedregosos e rasos). O pH dos solos é geralmente neutro ou próximo da neutralidade e pobre em matéria orgânica (em torno de 1%), porém ricos em sais minerais solúveis, especialmente em potássio e cálcio. Existem extensas áreas salinas, formadas em consequência das altas taxas de

evaporação, de práticas inadequadas de irrigação e a pouca dissolução das rochas matrizes, em consequência da baixa precipitação (Mendes, 1992).

2.6.3 Vegetação

A Região Semi-Árida é constituída por uma cobertura vegetal típica denominada Caatinga (em Tupi, “mata aberta”, “clara”, “cinza”), com uma mistura de ervas, arbustos e árvores de pequeno porte, de folhas caducas e pequenas, tortuosas, espinhentas e de elevada resistência às secas, denominada plantas xerófilas. Dentre as muitas espécies xerófilas existentes na região semi-árida temos a Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), Braúna (*Schinopsis brasiliensis*), Canafistula (*Cassia grandis*), Copaíba (*Copaifera langsdorffii*), Canjerana (*Spondias* sp), Craibeira (*Tabebuia caraiba*), Cerejeira (*Amburana claudii*), Jatobá (*Hymenaea courbaril*). Também são encontradas espécies arbóreas e arbustivas de folhas perenes que apresentam três estratos: arbóreo, arbustivo e herbácea. A Caatinga é pobre em gramíneas e rica em leguminosas (Mendes, 1992).

2.6.3.1 Ajustamento ecológico

Segundo Fernandes (1992), a flora da Caatinga tem sua adaptação ajustada a um processo de natureza comportamental, operando mecanismos de defesa de significados diversos daqueles apresentados pelas espécies do Cerrado, com um comprometimento mais fisiológico do que morfológico. Todo o comando genético desenvolveu processos com peculiaridades adaptativas, tornando a flora compatível com as condições severas a que estão sujeitas as espécies xerófilas. Ocorre, dessa forma, a uma singular seleção de plantas em que as particularidades se relacionam a um ajustamento ecológico, o que determina certas características anatômicas, morfológicas e fisiológicas, ao lado de uma seleção taxonômica, tais como:

Características Morfológicas:

- ↳ órgãos hipóginos tuberizados
- ↳ folhas pequenas ou compostas
- ↳ plantas espinescentes ou com acúleos
- ↳ afilia nas Cactáceas
- ↳ intumescência dos caules (Barrigudas - Bombacaceae)

Características Anatômicas:

- ↳ grande número de estômatos nas folhas
- ↳ lignificação precoce e intensa do caule
- ↳ estrutura apropriada à acumulação de água e de reserva, em tubérculos ou xilopódios.

Características Fisiológicas:

- ↳ intensa e rápida atividade fotossintética
- ↳ alta velocidade de brotação e florescimento
- ↳ caducifolia na estação seca
- ↳ mecanismos de defesa contra a perda de água, pelo desdobramento ou disposição das folhas, diminuindo sua exposição aos agentes atmosféricos.

Ainda, as diferentes respostas das plantas aos elementos ambientais pode se dar em razão da plasticidade fenotípica, que permite que os organismos se ajustem à variação ambiental, através de variação no padrão morfológico de algumas espécies (Briggs & Walters, 1984), em uma faixa de tolerância e adaptação às alterações ambientais característica para cada uma delas (Chapin III et al. 1993).

3. METODOLOGIA

3.1 Local de estudo e coleta de material

Para este estudo foram amostradas duas populações de *Myracrodruon urundeuva* (Freire, F. & M.F. Allemão). Em ambas as áreas de estudo, em que desenvolveu-se este trabalho foram estabelecidas áreas de coleta de amostras foliares e sementes, visando detectar a existência de variações genéticas associadas ao grau de perturbação, usando marcadores genéticos isoenzimáticos.

A primeira população está localizada na Estação Ecológica do Seridó (E.E.S) - (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis "IBAMA"), situada na Microregião do Seridó, no Município de Serra Negra do Norte - RN (Figura 1), latitude 6° 66' 00" S, longitude 37° 40' 00" W com altitude de 160 m. A Estação consta de uma área de 1166,38 ha. A vegetação da Caatinga nas encostas de morros da Estação ainda se apresenta com áreas mais preservadas, com árvores de grande porte e uma diversidade de espécies mais raras (baixa densidade), sendo que as espécies consideradas pioneiras típicas da região não ocorrem em alta densidade nesses locais, ao contrário do que se observa nas áreas secundárias, que vêm sofrendo intervenções freqüentes (PNUD/FAO/IBAMA/BRA/87/007, 1993).

A segunda população está situada numa área sujeita a perturbação antrópica bem acentuada, no Sítio Mata dos Alves (S.M.A), de propriedade do senhor Manuel Laurino Alves Filho, no Município de Imaculada - PB (Figura 1), latitude 7° 39' 00" S, longitude 37° 50' 00" W com altitude de

750 m e uma área de 84 ha. As espécies consideradas pioneiras típicas da região ocorrem em alta densidade nessa comunidade, o que é comum se observar nas áreas secundárias. As populações se encontram aproximadamente à 130 km de distância uma da outra.

Nas duas populações de *M. urundeuva*, os indivíduos foram mapeados no campo, totalizando um número de 30 indivíduos adultos por população, amostrados aleatoriamente. Esses indivíduos foram mapeados com auxílio de trena e bússola. Após acompanhada a fenologia, foram coletadas folhas das 30 matrizes, bem como sementes de 14 famílias por população constituindo as progênies (famílias) do estudo.

Figura 1. Localização das áreas de estudo: Estação Ecológica do Seridó, situada no Município de Serra Negra do Norte/RN e Sítio Mata dos Alves, em Imaculada/PB. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

3.2 Análises isoenzimáticas

A extração das enzimas foi realizada a partir de tecidos foliares de indivíduos adultos e de plântulas. As folhas foram coletadas na parte da manhã, quando a temperatura era mais amena e a umidade no material vegetal maior. Após a coleta das folhas dos indivíduos adultos, as mesmas foram armazenadas em refrigerador (por dois dias) e, em seguida, transportadas para o LARGEA (Laboratório de Genética e Reprodução de Espécies Arbóreas - LCF/ESALQ/USP - Piracicaba), em caixas de isopor com gelo, protegidas por sacos plásticos, procedimento utilizado para evitar modificações bioquímicas (oxidação das enzimas). As sementes coletadas e beneficiadas foram transportadas para o LARGEA e semeadas. Plântulas de 14 famílias com idade entre 7 a 10 dias foram utilizadas para análises isoenzimática.

3.2.1 Procedimentos de extração

Para a extração das enzimas, foram utilizadas amostras de aproximadamente 20 mg de tecido de limbo foliar (folhas adultas) e cotilédones (progênes), as quais foram maceradas em placas de porcelana resfriadas, com o auxílio de um bastão de vidro usando-se aproximadamente 10 mg de areia lavada, 7 a 10 mg de Polivinil-polipirrolidona (para remover compostos fenólicos e aumentar a estabilidade das enzimas), Polivinil-pirrolidona-360, e 200 µl da solução tamponada de extração número 1 de Alfenas et al. (1991), modificada pela ausência de 2-Mercaptoetanol (Tabela 2). Todo o processo de extração era feito sobre barras de gelo para manutenção de baixas temperaturas.

Tabela 2. Solução tamponada de extração modificada com base em Alfenas et al. (1991). Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Reagentes	Quantidade
Fosfato de sódio bibásico (0,034M)	0,6 g
Sacarose (0,2M)	7,0 g
Polivinil pirrolidona PVP 40 (2,56 %)	2,56 g
DTT (3 mM)	0,05 g
L-Ácido Ascórbico (5,7 mM)	0,1 g
DIECA (5,8 mM)	0,1 g
Bissulfito de Sódio (2,6 mM)	0,05 g
Borato de Sódio (Bórax - 2,5 mM)	0,05 g
Polietilenoglicol (6.000 - 1%)	1,0 g
Água destilada (q.s.p.)	100 ml

Os extratos de cada amostra eram absorvidos em "wicks" (pedaços de papel filtro - Whatman nº 3) com dimensões de 6 x 10 mm, os quais eram colocados lado a lado no gel, totalizando um número de 20 amostras. Além disso, dois "wicks" foram embebidos em solução de azul de bromofenol a 0,1% e colocados nas extremidades para marcação da migração.

Para a escolha do protocolo, foram realizadas análises preliminares de 19 enzimas, a seguir:

Glicerato-2-desidrogenase (G2DH - EC 1.1.1.29)

Isocitrato desidrogenase (IDH - EC 1.1.1.42)

Fosfoglucoose isomerase (PGI - EC 5.3.1.9.)

Malato desidrogenase (MDH - EC 1.1.1.37)

Fosfoglucomutase (PGM - EC 2.7.5.1.)

Peroxidase (PRX - EC 1.11.1.7)
Glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT - EC 2.6.1.1)
Glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH - EC 1.1.1.49)
6-fosfogluconato desidrogenase (6PGDH - EC 1.1.1.44)
 α -Esterase (α -EST - EC 3.1.1.1)
Leucina aminopeptidase (LAP - EC 3.4.11.1)
Aldolase (ALD - EC 4.1.2.13)
Glutamato desidrogenase (GDH - EC 1.4.1.3)
Glucose dsidrogenase (GLUDH - EC 1.1.1.47)
Xiquimato desidrogenase (SKDH - EC 1.1.1.25)
Álcool desidrogenase (ADH- EC 1.1.1.1)
Manitol desidrogenase (MADH - EC 1.1.1.67)
Sorbitol desidrogenase (SDH - EC 1.1.1.14)
Fosfatase ácida (ACP - EC 3.1.3.2)

Foram testados três sistemas de tampão eletrodo/gel: Tris-citrato - [TC] (Soltis et al., 1983), Citrato morfolina - [CM] (Clayton e Tretiak, 1972) e Histidina (Stuber et al., 1988).

A partir das análises preliminares, procurou-se os sistemas com uma boa definição, ausência de rastro e maior nitidez na definição das bandas, testando-se diversas combinações entre tampões de eletrodo/gel. Foram escolhidos 7 sistemas enzimáticos a seguir, que foram os que apresentaram melhor resolução das bandas: PGM, PGI, 6PGDH, MDH, GOT, LAP, α -EST, (Lacerda et al., 1996). O tampão eletrodo/gel, utilizado para os 7 sistemas, foi o Citrato morfolina (Clayton & Tretiak, 1972) (Tabela 3). O meio de suporte utilizado para a eletroforese de isoenzimas foi o gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%. No início da migração, os géis eram mantidos em corrente constante de 8 mA e voltagem inicial de 200 a 250 volts. Após 30 minutos de migração os "wicks" eram retirados, a corrente era aumentada para

40 mA e a voltagem para 300 a 350 volts. O tempo de corrida era de aproximadamente 8:30 horas. Ao final da migração, os géis eram cortados em 6 fatias de aproximadamente 2 mm de espessura. Nessa atividade, foram utilizadas as 4 fatias intermediárias para coloração.

Os protocolos que foram utilizados neste trabalho para a revelação das isoenzimas encontram-se nos ANEXOS (item 1).

Tabela 3. Tampão de eletrodo/gel. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Eletrodo: Ácido Cítrico 0,04M	8,4 g/l
•titular com citrato morfolina [N-(3-AMINO-PROPI)-MORFOLINA] para pH: 6,10	
Gel: diluição 1:20 do tampão do eletrodo	

3.3 Análise estatística

Através da interpretação dos zimogramas obteve-se os genótipos para cada indivíduo (adultos e progênies), possibilitando, assim, a estimativa dos vários parâmetros da variabilidade genética *entre* e *dentro* das populações.

3.3.1 Frequência alélica

A frequência alélica descreve a variação genética para um loco (Torggler, et al. 1995), e é obtida pelo número de vezes em que cada alelo é encontrado dividido pelo número total de alelos no loco. Assim:

$$\hat{p}_{ij} = n_{ij}/n_j$$

em que:

$\hat{p}_{ij}$ = frequência do alelo i na população j;

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

n_j = número total de alelos amostrados na população j.

3.3.2 Índices de diversidade genética

A partir das frequências alélicas obteve-se os seguintes índices de diversidade genética para adultos e progênies: *heterozigosidade média observada* ($\hat{H}_o$), *heterozigosidade esperada* ($\hat{H}_e$), *número médio de alelos por loco* (A), *porcentagem de locos polimórficos* (P) (é polimórfico quando o alelo mais comum tem frequência menor que 99 ou 95%) e índice de fixação de Wright ($\hat{f}$). Esses índices são estimativas obtidas a partir do programa BIOSYS-1, desenvolvido por Swofford & Selander (1989). Esses índices são estimados pelo programa da seguinte forma:

3.3.2.1 Heterozigosidade média observada ($\hat{H}_o$)

A heterozigosidade observada ($\hat{H}_o$) para cada loco foi obtida da seguinte forma:

$$\hat{H}_o = 1 - \sum \hat{P}_{ii}$$

em que: $\hat{P}_{ii}$ = frequência dos genótipos homozigóticos;

Para a obtenção da heterozigosidade média observada somou-se os valores obtidos em cada loco, dividido pelo número total de locos (monomórficos mais polimórficos).

3.3.2.2 Heterozigosidade média esperada ($\hat{H}_e$)

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

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

em que:

$\hat{p}_i$ = frequência alélica estimada do i-ésimo alelo.

Através da média aritmética entre todos os locos analisados (monomórficos mais polimórficos), foi obtida a heterozigosidade média esperada.

3.3.2.3 Porcentagem de locos polimórficos (P)

A porcentagem de locos polimórficos foi obtida pela média aritmética do número total de alelos pelo número de locos. Considerou-se como um loco polimórfico, aquele em que a frequência do alelo mais comum não ultrapassa-se 95%.

3.3.2.4 Número médio de alelos por loco (A)

O número médio de alelos por loco foi obtido pela média aritmética do número total de alelos dividido pelo número de total de locos.

3.3.2.5 Índice de fixação de Wright ($\hat{f}$)

O índice de fixação de Wright ou coeficiente de endogamia, foi estimado a nível de locos e média entre locos, segundo Vencovsky (1994), como segue:

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

Desta forma, este índice permite acessar os níveis de fixação alélicas por loco, bem como em nível de média de locos, informando sobre o grau de endogamia dentro das populações.

O teste, para verificar se o valor de $\hat{f}$ era estatisticamente diferente de zero, em nível de loco, foi o $\chi^2 = N \hat{f}^2 (k-1)$, com GL = $[k(1-k)]/2$, onde: $\hat{f}$ = índice de fixação, N = tamanho total da amostra e k número de alelos (Li & Horwitz, 1953). Para a média entre os locos usou-se o teste $z = (\hat{f} - 0) / \hat{\sigma}_{\bar{x}}$, onde: $\hat{f}$ = média de $\hat{f}$ entre os locos, $\hat{\sigma}_{\bar{x}}$ = desvio ou erro padrão da média ($\sqrt{\hat{\sigma}_{\hat{f}}^2 / n}$, sendo n, o número de observações), de acordo com Loiselle et al. (1995). Caso $z \geq 1,96$ ou $2,58$, então a média é considerada diferente de zero, a um intervalo de confiança de 95 ou 99% de probabilidade, respectivamente.

3.4 Análise da estrutura genética

3.4.1 Diversidade gênica de Nei

A partir das frequências alélicas, estimou-se a diversidade gênica de Nei (1973) para cada loco polimórfico, bem como para a espécie ($\hat{H}_t$), por:

$$\hat{H}_i = 1 - \sum p_i^2$$

em que: p_i é a frequência média do alelo i em um dado loco.

3.4.2 Estatísticas F de Wright

Os F's de Wright foram obtidos através do programa BIOSYS-1 (Swofford & Selander, 1989), conforme Nei (1977):

$$\hat{F}_{IT} = \frac{\hat{H}_e}{2\left(\frac{\hat{p}\hat{q} + \hat{p}\hat{r} + \hat{q}\hat{r}}{2}\right)}; \hat{F}_{IS} = 1 - \frac{\sum \hat{H}_o}{\sum \hat{H}_e}; \hat{F}_{ST} = \frac{\sum \hat{\sigma}_{p_i}^2}{\sum \left[\hat{p} \left(1 - \hat{p} \right) \right]}$$

em que:

$\hat{H}_e$ = heterozigiosidade média esperada entre populações: $\hat{H}_e = \sum \hat{H}_e / s$;

s = número de populações;

$\frac{\hat{p}}{p}, \frac{\hat{q}}{q}$ e $\frac{\hat{r}}{r}$ = média aritmética das frequências alélicas entre locos, entre populações;

$\sum \hat{\sigma}_{p_i}^2$ = somatória das variâncias entre alelos iguais de populações diferentes;

$\bar{p}_i = \frac{\hat{p}}{p}, \frac{\hat{q}}{q}$ e $\frac{\hat{r}}{r}$

Neste caso, $\hat{F}_{IS}$ é a probabilidade de que dois genes, tomados ao acaso dentro das populações, sejam idênticos por descendência. $\hat{F}_{IT}$ é a probabilidade de que dois genes, tomados ao acaso de na espécie sejam idênticos por descendência. Valores positivos de $\hat{F}_{IS}$ e $\hat{F}_{IT}$ indicam déficit de heterozigotos e valores negativos, indicam deficiência de homozigotos. Para verificar se $\hat{F}_{IS}$ e $\hat{F}_{IT}$ eram significativamente diferentes de zero, em nível de loco, usou-se o teste de qui-quadrado: $\chi^2 = N\hat{F} (k-1)$ com GL = $[k(1-k)]/2$, em que: $\hat{F}$ é o índice de fixação ($\hat{F}_{IS}$ ou $\hat{F}_{IT}$, respectivamente), N = tamanho total

da amostra e k número de alelos (Li & Horvitz, 1953). Para $\hat{F}_{ST}$, o teste de significância usado, para cada loco, foi o $\chi^2 = 2N\hat{F}_{ST}(k-1)$, GL = (k-1)(s-1), em que: N = tamanho total da amostra, k = número de alelos e s = número de populações (Workman & Niswander, 1970). Para testar se as médias de $\hat{F}_{IS}$ e $\hat{F}_{IT}$ era diferentes de zero, usou-se o teste $z = (\hat{F} - 0) / \hat{\sigma}_{\hat{F}}$, onde: $\hat{F}$ = média de $\hat{F}$ ($\hat{F}_{IS}$ ou $\hat{F}_{IT}$), entre locos, $\hat{\sigma}_{\hat{F}}$ = desvio padrão ou erro da média de $\hat{F}$ ($\sqrt{\hat{\sigma}_{\hat{F}}^2 / n}$; sendo n, o número de observações), de acordo com Loiselle et al. (1995). Caso $z \geq 1,96$ ou $2,58$, então a média será diferente de zero, a um intervalo de confiança de 95 ou 99% de probabilidade. Já para testar a significância da média de $\hat{F}_{ST}$, utilizou-se o teste de χ^2 de contingência, entre o número de cada alelo observado em cada população (contagem direta), contra o número esperado de cada alelo para cada população (estimada pela multiplicação da frequência de cada alelo por loco pelo número total de gametas de cada loco).

3.4.3 Sistema reprodutivo

O sistema reprodutivo foi inicialmente caracterizado pela verificação da existência de equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações de adultos e progênies. Posteriormente, estimou-se a taxa de cruzamento multilocos e unilocos. Comparou-se, então, as frequências alélicas do óvulo e do pólen.

3.4.3.1 Aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e de endogamia de Wright

A aderência das populações ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testada a partir do programa BIOSYS-1. O teste utilizado foi o qui-quadrado

(χ^2) não agrupado. No entanto, quando os valores das frequências genotípicas esperadas apresentavam-se menores do que 1,00, estes eram agrupados em classes como *homozigotos para os alelos mais comuns*, *heterozigotos comuns/raros* e *homozigotos raros e outros heterozigotos*. Todos foram testados pelo χ^2 agrupado e exato de Fischer. Nos casos em que temos valores esperados abaixo de 1,0, e muitos abaixo de 5,0, esta metodologia é a mais apropriada (Lepsch-Cunha, 1996).

Quando os locos não se encontravam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, estes eram submetidos ao teste de equilíbrio de endogamia de Wright. O teste de χ^2 para verificar a aderência dos genótipos observados aos genótipos esperados, segundo equilíbrio de endogamia de Wright, foi estimado conforme Vencovsky (1994):

$$\chi^2 = \sum (n_o - n_e)^2 / n_e$$

em que:

n_o = frequência genotípica observada,

n_e = frequência genotípica esperada segundo equilíbrio de endogamia de Wright.

Esse teste considera o índice de fixação de Wright para as estimativas das frequências genotípicas esperadas de indivíduos homozigóticos e heterozigóticos. As frequências genotípicas esperadas foram obtidas segundo Weir (1990):

$$\hat{P}_{ii} = \hat{p}_i^2 + \hat{f} \hat{p}_i (1 - \hat{p}_i)$$

$$\hat{P}_{ij} = 2 \hat{p}_i \hat{p}_j (1 - \hat{f})$$

em que:

$\hat{P}_{ii}$ = frequência genotípica esperada do homozigoto ii;

$\hat{P}_{ij}$ = frequência genotípica esperada de heterozigoto ij;

$\hat{f}$ = índice de fixação de Wright;

p_i = frequência do i ésimo alelo.

Os graus de liberdade do teste foram dados por: $GL = [(ng - 1) - (na - 1) - 1]$, em que ng = números de genótipos e na = números de alelos, sendo um grau de liberdade perdido devido ao $\hat{f}$ (Vencovsky, 1994). Devido à computação dos graus de liberdade, este teste só pode ser aplicado em locos que possuam no mínimo 3 alelos.

3.4.3.2 Taxa de cruzamento

A taxa de cruzamento foi caracterizada para as populações através de estimativas de máxima verossimilhança (Ritland & Jain, 1981; Ritland & El-Kassaby, 1985), obtendo-se, assim, as taxas de cruzamento multilocos e unilocos.

3.4.3.3 Taxa de cruzamento multilocos ($\hat{t}_m$) e unilocos ($\hat{t}_s$)

A taxa de cruzamento multilocos ($\hat{t}_m$) e unilocos ($\hat{t}_s$), para as populações, foram obtidas a partir do programa MLT ("Multilocos") de Ritland (1990), baseado no modelo de cruzamento misto de Clegg (1980) e Ritland & Jain (1981). Este modelo assume que as progênies resultam de uma mistura de cruzamentos aleatórios e de autofecundação. As pressuposições básicas do modelo são: (1) que o conjunto de pólen ("pool" de pólen) é homogêneo para o cruzamento com todos os genótipos maternos; (2) que os alelos de diferentes locos segregam-se independentemente; (3) que os locos não são afetados pela seleção ou mutação entre o tempo de cruzamento e a análise; e (4), que os locos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Clegg, 1980; Ritland & Jain, 1981; Ritland, 1990; Murawsky et al., 1994).

De acordo com El-Kassaby & Ritland (1987), o programa MLT testa a aderência dos locos ao modelo de cruzamento misto, pelo teste de qui-quadrado, entre os desvios das freqüências genotípicas observadas relativamente ao esperado pelo modelo.

Para a obtenção das estimativa de $\hat{t}_s$, as freqüências genotípicas, foram submetidas separadamente loco a loco, ao programa MLT. A seguir, estimou-se a taxa de cruzamento média para unilocos pela média aritmética da taxa de cruzamento obtida para cada loco, bem como seu respectivo erro padrão ($\hat{\sigma}_{t_s} = \sqrt{\hat{\sigma}_{t_s}^2 / n}$), em que: $\hat{\sigma}_{t_s}$ = erro padrão da taxa de cruzamento unilocos média; $\hat{\sigma}_{t_s}^2$ = variância das taxas de cruzamento unilocos; n = número de taxas de cruzamentos unilocos). Para a estimativa de $\hat{t}_m$, submeteu-se todos os locos, ao mesmo tempo, ao programa MLT. Estas estimativas são muito importantes, porque permitem verificar a existência de cruzamentos entre indivíduos aparentados. Segundo Shaw & Allard (1982), a diferença entre a taxa multilocos e unilocos ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$) decorre da existência de cruzamentos entre indivíduos aparentados na população.

3.4.3.4 Diferenças nas freqüências alélicas entre pólen e óvulo

Para verificar se os genótipos maternos cruzam na mesma taxa na população, comparou-se as freqüências alélicas entre pólen e óvulo através da estimativa de $\hat{F}_{ST}$ de Wright para cada loco, como segue:

$$\hat{F}_{ST} = \hat{\sigma}_{p_i}^2 / [\bar{p}_i (1 - \bar{p}_i)]$$

em que: σ^2 = variância entre as freqüências alélicas do óvulo e do pólen;

$\bar{p}_i$ = freqüência alélica média entre óvulo e pólen do *i*ésimo alelo.

As estimativas de $\hat{F}_{ST}$, para locos com três alelos, foram feitas a partir de Vencovsky (1993).

$$\hat{F}_{ST} = 1 - [\hat{H}_e / 2(\hat{p}\hat{q} + \hat{p}\hat{r} + \hat{q}\hat{r})]$$

em que:

$\hat{H}_e = 1 - \left[2(\hat{p}\hat{q} + \hat{p}\hat{r} + \hat{q}\hat{r}) \right]$ = heterozigosidade média esperada entre famílias para cada loco;

$\hat{p}, \hat{q}, \hat{r}$ = frequência alélica média entre famílias.

O $\hat{F}_{ST}$ também foi usado para estimar se o conjunto de pólen é homogêneo na população. Este teste foi realizado considerando-se as famílias como subpopulações e submetendo-as ao programa BIOSYS-1. Desta forma, obtivemos a diferença nas frequências alélicas polínicas contribuintes para a formação das progênies.

A significância de $\hat{F}_{ST}$, para cada loco, foi testada aplicando o $\chi^2 = 2N\hat{F}_{ST}(k-1)$, GL = (k-1)(s-1), onde: N = tamanho médio da amostra, k = número de alelos e s = número de populações (Workman & Niswander, 1970).

3.5 Distribuição espacial dos genótipos

Para analisar a estrutura genética espacial das populações, procedeu-se à análise espacial dos genótipos através da autocorrelação, baseado em Sokal & Oden (1978a, b). O programa utilizado foi o "Autocorr", confeccionado por Jonh S. Heywood. A autocorrelação foi feita para os locos polimórficos detectados nos indivíduos adultos. A análise de autocorrelação considera cada alelo (p_i) como uma variável. Assim, cada genótipo homozigótico recebe o valor de $p_i = 1,0$, o heterozigótico $p_i = 0,5$, e, quando o alelo está ausente, $p_i = 0,0$. O número de alelos analisados por loco

corresponde a $n - 1$, onde n , é o número de alelos; como se vê, de um loco com dois alelos, apenas um destes foi avaliado, já que o outro tem frequência dependente deste.

A caracterização da estrutura espacial foi feita a partir do índice I de Moran, de acordo com Sokal & Oden (1978a). Assim, pares de indivíduos amostrados foram classificados de acordo com a distância Euclidiana d_{ij} , sendo que a classe k inclui d_{ij} , satisfazendo $k - 1 \leq d_{ij} < k$, onde k vai de 1 a 10. O índice I de Moran para classe k foi calculado pela expressão:

$$I(k) = n \sum_i \sum_{j(i \neq j)} W_{ij} z_i z_j / (S \sum_i z_i^2)$$

em que: $z_i = \hat{p}_i - \hat{p}$, sendo $\hat{p}$ a média de $\hat{p}_i$; $w_{ij} = 1$ se a distância entre a i -ésima e a j -ésima planta for classificada dentro da classe k ; do contrário, w_{ij} é zero e n é o número total de amostras. Sobre hipótese de aleatoriedade, $I(k)$ tem o valor esperado de $\mu_1 = -1/(n-1)$ para todos k . Se um alelo é distribuído aleatoriamente para a classe k , a normalidade $I(k)$ para o genótipo da planta $SNDg(k) = [I(K) - \mu_1] / \mu_2^{1/2}$, é assintoticamente gaussiano, com um valor esperado próximo a zero [$\mu_1 = -1/(n-1)$]. Sendo assim, quando $SNDg(k)$ (desvio padrão) exceder 1,96 e 2,58, I será significativa a um nível de 95 e 99% de probabilidade, respectivamente. O índice I de Moran pode assumir valores entre -1 e +1, em que -1 significa que os indivíduos pareados são completamente diferentes (autocorrelação negativa) e +1 significa que os indivíduos pareados são idênticos (autocorrelação positiva) (Gandara, 1996). Valor zero significa ausência de autocorrelação, isto é, os indivíduos estão aleatoriamente distribuídos no espaço. Utilizou-se de três métodos para o pareamento de indivíduos a serem comparados para a análise de distribuição espacial dos genótipos de *M. urundeuva*: conexão de Gabriel, vizinho mais próximo e comparações dentro de classes de distâncias pré estabelecidas. A conexão de Gabriel parecia dois indivíduos, A e B, os quais recebem peso 1, se nenhum indivíduo ocorrer sobre ou dentro do círculo, cujo diâmetro é o segmento da reta AB (Sokal & Oden, 1978a). Segundo Gandara (1996), neste

tipo de análise mais indivíduos são pareados com indivíduos circundantes que o método do vizinho mais próximo. Na análise do vizinho mais próximo, pares de indivíduos adjacentes recebem peso de $w = 1$, e todos os demais pares valor $w = 0$ (Sokal & Oden, 1978a). Já na análise por classes de distâncias, todos os pares de indivíduos comparados, os quais apresentam a distância entre si incluída em um intervalo pré estabelecido, recebem peso 1, e as demais comparações recebem valor zero (Gandara, 1996). Foram pré-estabelecidas 10 classes de distâncias, objetivando um número de conexões mínimas em torno de 30. Ainda, para maior evidência do comportamento da distribuição espacial dos genótipos por classes de distância, construiu-se correlogramas para comparar o I obtido para diversas classes de distância em relação às distâncias especificadas, indicando a extensão da estrutura espacial quando presente.

Alguns trabalhos que demonstram ser comum uma distribuição não aleatória dos alelos e genótipos dentro de populações naturais de plantas é citado por Hamrick (1983). Para algumas populações naturais de espécies arbóreas tropicais já estudadas, tal padrão não tem sido encontrado tais como em *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Aspidosperma polyneuron* (Maltez, 1997), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997) e *Chorisia speciosa* (Souza, 1997).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Levantamento das populações

Na Estação Ecológica do Seridó - RN (E.E.S.), que consta de uma área de 1166,38 ha, foram mapeados 30 indivíduos adultos de *M. urundeuva*, bem como, na população situada no Sítio Mata dos Alves - PB (S.M.A.) com 84 ha. Apesar da *M. urundeuva* ser uma espécie rara (baixa densidade)(com. pessoal Kageyama, 1995 *apud* Lepsch-Cunha, 1996) o croqui apresentando os indivíduos da população da E.E.S. sugerem um agrupamento dos indivíduos enquanto que no S.M.A. parece ser mais aleatória (Figuras 2 e 3). A localização espacial dos indivíduos pode ser observada nas Figuras 2 e 3, respectivamente, assim como as matrizes de onde foram coletadas as sementes em outubro de 1995.

DENOMINAÇÃO – MATA "PRIMÁRIA"
 PROPRIETÁRIO – IBAMA – SUPES/ RN
 LOCAL – ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO SERIDÓ
 MUNICÍPIO – SERRA NEGRA DO NORTE
 ESTADO – RIO GRANDE DO NORTE
 ÁREA – 1.166,38 ha
 ESCALA – 1:4.000

Figura 2. Localização dos 30 indivíduos adultos de *Myracrodruon urundeuva*; os círculos fechados correspondem às matrizes das 14 famílias. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

DENOMINAÇÃO – MATA SECUNDÁRIA
 PROPRIETÁRIO – MANUEL LAURINO ALVES FILHO
 LOCAL – SÍTIO MATA DOS ALVES
 MUNICÍPIO – IMACULADA
 ESTADO – PARAÍBA
 ÁREA – 84 ha
 ESCALA – 1:1.500

Figura 3. Localização dos 30 indivíduos adultos de *Myracrodruon urundeuva*; os círculos fechados correspondem às matrizes das 14 famílias. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

4.2 Análise genética dos zimogramas

A partir da interpretação dos zimogramas foram obtidos os genótipos individuais (Figura 4). As análises dos zimogramas foram baseadas nos padrões isoenzimáticos da variabilidade de duas populações de *M. urundeuva*, ambas com 30 indivíduos adultos e 14 famílias. O termo isoenzima foi utilizado por Gandara (1996), como produto enzimático resultante da ação de diferentes alelos.

Fosfoglucomutase (PGM)

O zimograma de PGM revelou duas regiões. Nas progênies a região mais catódica foi interpretada como um loco polimórfico (2 alelos), enquanto que a região anódica foi interpretada como um loco monomórfico (alelos fixados na população). Nos adultos o gel revelou dois locos polimórficos (2 alelos). A enzima apresentou estrutura monomérica.

Fosfoglucose isomerase (PGI)

Este sistema enzimático revelou duas zonas monomórficas (alelos fixados) para os indivíduos adultos. As progênies apresentaram 2 locos polimórficos (3 alelos) com estrutura dimérica.

Malato desidrogenase (MDH)

Neste caso os padrões de banda foram bastante complexos. Foi possível interpretar dois locos com alelos fixados na população (Mdh-2 e Mdh-3), bem como para Mdh-1 nos adultos e progênies da E.E.S. Os adultos e progênies do S.M.A. apresentaram Mdh-1 polimórfico com 2 e 3 alelos respectivamente.

6-Fosfogluconato desidrogenase (6-PGDH)

Nas progênies, a maioria dos indivíduos apresentaram alelos fixados nas populações (1 loco monomórfico).

Alfa-esterase (α -EST)

O zimograma desta enzima apresentou uma zona de atividade com 1 loco polimórfico; 3 alelos se fizeram presentes na população da E.E.S. Enzima monomérica.

Leucina aminopeptidase (LAP)

Esse sistema revelou duas zonas de atividade, constituindo 2 locos polimórficos com 2 alelos. Enzima monomérica.

Glutamato-oxaloacetato transaminase (Got)

Apresentou duas regiões com alelos fixados nas famílias, interpretados como 2 locos monomórficos.

Figura 4. Amostras dos zimogramas, ainda em gel, para quatro dos sete sistemas enzimáticos (PGI, 6PGDH, α -EST, e MDH) empregados em *M. urundeuva*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

4.3 Frequência alélica

As frequências alélicas nos 8 locos dos indivíduos adultos da E.E.S., 6 apresentaram-se monomórficos (Pgm-1, Pgi-1, Pgi-2, Mdh-1, Mdh-2 e Mdh-3). No S.M.A., dos 8 locos, 4 apresentaram-se monomórficos (Pgi-1, Pgi-2, Mdh-2 e Mdh-3) (Tabela 4). As frequências genotípicas podem ser consultadas no ANEXO IV.1.

Tabela 4. Frequência dos alelos nos 8 locos alozímicos e o número de indivíduos adultos/loco (N) analisados em indivíduos adultos de duas populações naturais de *M. urundeuva*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Locos	E.E.S.				S.M.A.			
	1	2	3	N	1	2	3	N
Pgm-1	1,000	0,000	-	22	0,947	0,053	-	19
Pgm-2	0,964	0,036	-	28	0,957	0,043	-	23
Pgi-1	1,000	0,000	-	30	1,000	0,000	-	20
Pgi-2	1,000	0,000	-	30	1,000	0,000	-	30
Mdh-1	1,000	0,000	-	29	0,967	0,033	-	30
Mdh-2	1,000	0,000	-	26	1,000	0,000	-	30
Mdh-3	1,000	0,000	-	26	1,000	0,000	-	30
Est-1	0,733	0,267	0,000	30	0,604	0,375	0,021	24
Alelos totais	10				13			

1;2;3 = alelos; (-)→ indica ausência do alelo no loco; E.E.S.= Estação Ecológica do Seridó; S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

De maneira geral, a distribuição das frequências alélicas foram semelhantes para os indivíduos adultos nas duas populações estudadas, de forma que os alelos mais comuns tendem a ser os mesmos. Chama a atenção

para os alelos raros, o alelo 3 do loco Est-1 que foi exclusivo da população S.M.A.; o alelo 2 do loco Pgm-1 e o alelo 2 do Mdh-1, que não foram encontrados na população da E.E.S.

A estimativa das freqüências alélicas permitiu avaliar a diversidade genética apresentada na Tabela 6.

Tabela 5. Freqüência dos alelos nos 12 locos alozímicos analisados e o número de progênies /loco (N), em 14 progênies de duas populações naturais de *M. urundeuva*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	E.E.S.				S.M.A.			
	1	2	3	N	1	2	3	N
Pgm-1	0,998	0,002	-	266	0,983	0,017	-	234
Pgi-1	0,973	0,027	0,000	260	0,969	0,027	0,004	243
Pgi-2	0,987	0,013	-	265	1,000	0,000	-	262
Mdh-1	1,000	0,000	0,000	259	0,863	0,125	0,012	244
Mdh-2	1,000	-	-	257	1,000	-	-	258
Mdh-3	1,000	-	-	257	1,000	-	-	258
6Pgdh-1	0,998	0,002	-	265	0,983	0,017	-	259
Est-1	0,629	0,363	0,008	244	0,638	0,315	0,046	260
Lap-1	0,998	0,002	-	261	0,998	0,002	-	250
Lap-2	0,957	0,043	-	243	0,994	0,006	-	238
Got-1	1,000	-	-	256	1,000	-	-	246
Got-2	1,000	-	-	265	1,000	-	-	257
Alelos totais	20				22			

1;2;3 = alelos ; (-) → indica ausência do alelo no loco; E.E.S.= Estação Ecológica do Seridó;
S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

Dos 12 locos das progênies da E.E.S., 5 apresentaram-se monomórficos (Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3, Got-1 e Got-2). Da mesma forma, no S.M.A., dos 12 locos, 5 apresentaram-se monomórficos (Pgi-2, Mdh-2, Mdh-3, Got-1 e Got-2). As frequências genotípicas podem ser consultadas no ANEXO IV.2.

De maneira geral, para as progênies estudadas nas duas populações a distribuição das frequências alélicas foi semelhante, de forma que os alelos mais comuns tendem a ser os mesmos. As maiores oscilações são perceptíveis para os alelos raros, como o alelo 3 do loco Pgi-1, o alelo 2 e 3 do loco Mdh-1, que foram exclusivos da população S.M.A. e o alelo 2 do loco Pgi-2 na E.E.S.

A estimativa das frequências alélicas permitiu avaliar a diversidade genética apresentada na Tabela 6.

4.4 Diversidade genética

A estimativa dos índices de diversidade genética gerados pelo programa BIOSYS-1 (Tabela 6) pôde ser construída a partir das estimativas das frequências alélicas observadas nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 6. Índices de diversidade genética dos indivíduos adultos e das progênies de duas populações naturais de *M. urundeuva* na Região Semi-Árida (NE do Brasil), baseados em 8 locos e 4 sistemas enzimáticos e 12 locos e 7 sistemas enzimáticos, respectivamente. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Índices de Diversidade Genética	POPULAÇÕES			
	E.E.S.		S.M.A.	
	ADULTOS	PROGÊNIES	ADULTOS	PROGÊNIES
Heterozigosidade média observada	0,076	0,055	0,121	0,064
($\hat{H}_o$)	(0,066)	(0,039)	(0,085)	(0,047)
Heterozigosidade média esperada ($\hat{H}_e$)	0,057	0,054	0,093	0,073
	(0,048)	(0,039)	(0,059)	(0,043)
Percentagem de locos polimórficos *	12,50	8,3	25,00	16,67
(0.95)				
Percentagem de locos polimórficos *	25,00	33,33	50,00	41,67
(0.99)				
Índice de Fixação	-0,333	-0,019	-0,301	0,123
Número médio de alelos por loco	1,3 (0,2)	1,7 (0,2)	1,6 (0,3)	1,8 (0,2)
Tamanho médio da amostra por locos	27,6	258,2	25,8	250,8
	(1,00)	(2,2)	(1,7)	(2,7)

*Um loco é considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não exceder um intervalo de confiança de 0,95 ou 0,99 de probabilidade; os valores entre parênteses correspondem aos desvios padrão; E.E.S.= Estação Ecológica do Seridó; S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

O percentual de locos polimórficos variou de 33,33% a 41,67% entre progênies nas duas populações. O baixo percentual de polimorfismo, obtido nas populações, pode ser explicado pelo fato de ter-se trabalhado também com os locos monomórficos e não apenas com os polimórficos, como é visto em alguns trabalhos. Hamrick & Godt (1990), em estudo no qual os locos monomórficos estavam presentes na estimativa da diversidade genética (amostragem ao acaso dos locos), encontraram, para espécies vegetais, em média, 50,5% dos locos polimórficos e a heterozigosidade média de 0,149 e, dentro de populações, em média, 34,2% de locos polimórficos e a heterozigosidade média de 0,113. A heterozigosidade observada e a esperada foram de 0,055 e 0,054 (E.E.S.) e 0,064 e 0,073 (S.M.A.), respectivamente. Esses valores obtidos não diferem entre si, nem entre as populações. As progênies do S.M.A. apresentaram excesso de homozigotos (0,123), possivelmente devido ao efeito de deriva (a fragmentação provoca alterações que contribuem para a erosão da variação genética) ou devido ao cruzamento entre aparentados, enquanto que na E.E.S. apresentaram excesso de heterozigotos (-0,019), mesmo que em nível bem reduzido.

A heterozigosidade média na população adulta de *M. urundeuva*, localizada na E.E.S. (RN), foi de 0,076 (0,066) e, no S.M.A. (PB), de 0,121 (0,085), pelo critério de 99% de probabilidade. A heterozigosidade esperada, ou diversidade gênica, foi relativamente menor que a observada. O índice de fixação de Wright mostrou excesso de heterozigotos em ambas as populações adultas. Uma das possibilidades é de que os locos analisados estejam ligados a locos sujeitos a seleção. As duas populações apresentaram uma heterozigosidade mais baixa que a encontrada por Hamrick & Godt (1990) de 0,109 para espécies arbóreas tropicais, 0,124 para espécies de polinização por animais e 0,123 para espécies com dispersão pelo vento (características da espécie do presente estudo).

A população que sofreu maior intervenção antrópica (S.M.A.), apesar de apresentar maior heterozigosidade, provavelmente devido à entrada

de fluxo gênico oriundo de populações vizinhas, apresentou um certo grau de endogamia nas progênes, o que sugere a existência de cruzamento entre aparentados. Um acompanhamento fenológico e da abundância da floração são importantes para avaliar as contribuições relativas, tanto femininas quanto masculinas dos indivíduos, para a formação das sementes que constituirão as próximas gerações.

Outros estudos de diversidade genética em espécies tropicais indicaram valores maiores do que os encontrados para a *M. urundeuva* no presente trabalho. Gandara (1996) encontrou um valor de 0,222 para a heterozigosidade média em uma população de *Cedrela fissilis* (espécie anemocórica e polinizada provavelmente por abelhas e/ou mariposas). Paiva et al. (1994) encontraram um valor médio de 0,241 em *Hevea brasiliensis*. Reis (1996) obteve valores variando de 0,378 a 0,570 em populações naturais de *Euterpe edulis* procedentes de Santa Catarina e de São Paulo. Loveless & Hamrick (1987), na Ilha de Barro Colorado - Panamá, encontraram um valor médio de 0,240 para 8 espécies arbóreas estudadas. Em *Couratari multiflora* e *C. guianensis*, o mesmo parâmetro apresentou estimativas de 0,359 e 0,203, respectivamente (Lepsch-Cunha, 1996).

Em um estudo com 16 espécies arbóreas tropicais de baixa densidade (1 indivíduo a cada 2 ha e 1 indivíduo a cada 10 ha), Hamrick & Murawski (1991) obtiveram uma heterozigosidade média de 0,124. Valor semelhante foi encontrado para as populações de *M. urundeuva* (E.E.S. e S.M.A.). Os mesmos autores citados compararam a heterozigosidade dessas 16 espécies arbóreas raras com os de 16 espécies comuns, encontrando valores significativamente maiores para as espécies comuns, concluindo, assim, que os baixos níveis de diversidade para as espécies raras estão relacionados ao tamanho populacional efetivo pequeno nestas espécies. Outro ponto forte levou a essa conclusão foi a estimativa obtida para a porcentagem de locos polimórficos (42%) e o número médio de alelos por loco polimórfico (2,14) para as 16 espécies raras, que foram menores do que as obtidas para as

espécies mais comuns (61% e 3,17 respectivamente). Hamrick & Godt (1990), intensificando os estudos de Hamrick (1983), encontraram, em uma espécie de história vital semelhante à aroeira, um valor médio de 2,0 alelos por loco e uma porcentagem de locos polimórficos de 52,77%. *M. urundeuva* no presente estudo apresentou estimativas semelhantes as das espécies raras (25% e 1,3; 50% e 1,6 para os adultos; 33% e 1,7 e 41,67% e 1,8 para as progênies, respectivamente).

Moraes (1992), em estudo realizado com *M. urundeuva* na região de Bauru (SP) e Selvíria (MS), encontrou uma heterozigosidade média de 0,140 e 0,160, respectivamente. Valores próximos foram encontrados para a mesma espécie na região de Serra Negra do Norte (RN) e em Imaculada (PB): 0,076 e 0,121, respectivamente (o presente estudo).

Em ambos os trabalhos, pode-se apontar que a diversidade genética nas 4 populações estudadas é de pequena magnitude. Como a espécie tem grande amplitude de ocorrência, mais populações devem ser estudada.

4.5 Sistema reprodutivo

Com base na distribuição do χ^2 foi feita a avaliação da existência de equilíbrio de panmixia nas duas populações estudadas (Tabela 7).

Tabela 7. Teste qui-quadrado (χ^2) para os desvios do equilíbrio de Hard-Weinberg, considerando números observados (n_o) e esperados (n_e) dos genótipos não agrupados (χ^2_{nagr}) e agrupados (χ^2_{agr}) em 3 classes para adultos e progênies de duas populações naturais de *M. urundeuva*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

LOCO	GENÓTIPO ¹	E.E.S.					
		ADULTOS			PROGÊNIES		
		n_o	n_e	χ^2	n_o	n_e	χ^2
Pgm-1	(a)1-1	-	-	-	265	265,001	
	(b)1-2				1	0,998	(1)
	(c)2-2				0	0,001	0,000 ^{ns}
Pgm-2	(a)1-1	26	26,036		-	-	-
	(b)1-2	2	1,929	(1)			
	(c)2-2	0	0,036	0,000 ^{ns}			
Pgi-1	(a)1-1	-	-	-	246	246,188	
	(b)1-2				14	13,623	(1)
	(c)2-2				0	0,188	0,000 ^{ns}
Pgi-2	(a)1-1	-	-	-	258	258,046	
	(b)1-2				7	6,908	(1)
	(c)2-2				0	0,046	0,000 ^{ns}
6Pgdh-1	(a)1-1	-	-	-	264	264,001	
	(b)1-2				1	0,998	(1)
	(c)2-2				0	0,001	0,000 ^{ns}
Est-1	(a)1-1	14	16,133				
	(b)1-2	16	11,733	(1)			
	(c)2-2	0	2,133	2,625 ^{ns}			
Est-1	(a)1	-	-	-	95	96,567	
	(b)2				117	113,867	(1)
	(c)3				32	33,567	0,107 ^{ns}
Lap-1	(a)1-1	-	-	-	260	260,001	
	(b)1-2				1	0,998	(1)
	(c)2-2				0	0,001	0,000 ^{ns}
Lap-2	(a)1-1	-	-	-	222	222,454	
	(b)1-2				21	20,093	(1)
	(c)2-2				0	0,454	0,008 ^{ns}

continuação da Tabela 7

LOCO	GENÓTIPO ¹	S.M.A.					
		ADULTOS			PROGÊNIES		
		n _o	n _e	χ^2	n _o	n _e	χ^2
Pgm-1	(a)1-1	17	17,053		227	226,068	
	(b)1-2	2	1,895	(1)	6	7,863	(1)
	(c)2-2	0	0,053	0,000 ^{ns}	1	0,068	2,962 ^{ns}
Pgm-2	(a)1-1	21	21,043		-	-	-
	(b)1-2	2	1,913	(1)			
	(c)2-2	0	0,43	0,000 ^{ns}			
Pgi-1	(a)1	-	-	-	228	228,231	
	(b)2				15	14,537	(1)
	(c)3				0	0,231	0,000 ^{ns}
Mdh-1	(a)1-1	28	28,033		-	-	-
	(b)1-2	2	1,933	(1)			
	(c)2-2	0	0,033	0,000 ^{ns}			
Mdh-1	(a)1	-	-	-	205	181,599	
	(b)2				11	57,801	(1)
	(c)3				28	4,599	154,001 ^{**}
6Pgdh-1	(a)1-1	-	-	-	250	250,078	
	(b)1-2				9	8,844	(1)
	(c)2-2				0	0,078	0,000 ^{ns}
Est-1	(a)1	6	8,760		95	105,985	
	(b)2	17	11,479	(1)	142	120,031	(1)
	(c)3	1	3,760	4,138 [*]	23	33,985	8,112 ^{**}
Lap-1	(a)1-1	-	-	-	249	249,001	
	(b)1-2				1	0,998	(1)
	(c)2-2				0	0,001	0,000 ^{ns}
Lap-2	(a)1-1	-	-	-	235	235,009	
	(b)1-2				3	2,981	(1)
	(c)2-2				0	0,009	0,000 ^{ns}

1- Genótipos ou classes:

(a) - n° de homozigotos para o alelo mais comum; (b) - n° de heterozigotos entre os alelos comum/raro; (c) - n° de homozigotos raros e outros heterozigotos.

1; 2; 3, correspondem a genótipos agrupados (χ^2_{agr}); 1-1; 1-2; 2-2, correspondem a genótipos não agrupados (χ^2_{nagr}) ou reais. * P < 0,05; ** P < 0,01.

1 números entre parênteses correspondem ao grau de liberdade (GL).

1 E.E.S.= Estação Ecológica do Seridó; S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

Foram analisados 2 locos nos adultos e 7 nas progênies da população da E.E.S. e 4 e 7 locos respectivamente da população do S.M.A. Os locos polimórficos da população da E.E.S. não apresentaram desvios significativos panmixia. A população do S.M.A. apresentou a maior parte dos locos em Equilíbrio de Hard-Weinberg.

Podemos notar que as duas populações de *M. urundeuva* encontram-se em panmixia, ou seja, os cruzamentos estão ocorrendo ao acaso nas populações, atendendo a uma das pressuposições para o Equilíbrio de Hard-Weinberg.

Segundo Gandara (1996), as populações de espécies raras podem, apesar das dificuldades relacionadas à polinização de grandes distâncias, apresentar cruzamentos ao acaso, requisito básico para estar em equilíbrio de Hard-Weinberg. A raridade ou não das espécies pode ser considerada como uma característica associada a uma série de características evolutivas, como padrões de sistema reprodutivo, tipo de polinização, dispersão e predação de sementes/plântulas e, portanto, intrínseca às mesmas.

Lespch-Cunha (1996) cita diversos trabalhos que abordam a raridade, desde a sua definição até o entendimento das comunidades. Enquanto que Bawa & Ashton (1991) apontam uma categorização clássica de raridade, distinguindo quatro grupos em floresta tropical, como:

- a) espécies uniformemente raras, ou seja, ocorrem em populações de baixa densidade (menos de um indivíduo por hectare);
- b) espécies comuns em um local e raras entre os locais, onde as áreas de maiores concentrações representam fontes de propágulos, e as áreas de menores densidades estão sujeitas a grandes flutuações;
- c) espécies endêmicas, sendo que o tamanho populacional pode ser grande ou pequeno;
- d) espécies agrupadas, mas em que a densidade populacional é baixa.

As populações do presente estudo podem ser apontadas como pertencente as espécies agrupadas, mas em que a densidade populacional total é baixa (Fig. 2 e 3).

4.6 Taxa de cruzamento

A taxa de cruzamento obtida a partir da taxa de cruzamento multilocos ($\hat{t}_m$) e unilocos ($\hat{t}_s$), através de estimativas de máxima verossimilhança (Ritland & Jain, 1981), e o teste para aderência dos locos ao modelo de cruzamento misto pelo teste de qui-quadrado, encontra-se na Tabela 8 para a população da E.E.S. e na Tabela 9 para a do S.M.A.

Tabela 8. Frequência alélica estimada nos pólenes e nos óvulos e qui-quadrado para a adequação ao modelo de cruzamento misto; estimativas da taxa de cruzamento multiloco ($\hat{t}_m$) e unilocos ($\hat{t}_s$) para a população natural de *M. urundeuva* da E.E.S., com sete famílias. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	Alelo	E.E.S.		$\hat{t}_m$	χ^2
		Freq. alélica estimada			
		Pólen	Óvulo		
Pgm-1	1	0,993	1,000		
	2	0,007	0,000		0,000 ^{ns}
Pgi-1	1	0,986	1,000		
	2	0,014	0,000		0,000 ^{ns}
Pgi-2	1	0,951	1,000		
	2	0,049	0,000		0,000 ^{ns}
6Pgdh-1	1	0,986	1,000		
	2	0,014	0,000		0,000 ^{ns}
Est-1	1	0,472	0,643		
	2	0,513	0,357		
	3	0,015	0,000		0,386 ^{ns}
Lap-1	1	0,993	1,000		
	2	0,007	0,000		0,000 ^{ns}
Lap-2	1	0,992	1,000		
	2	0,008	0,000		0,000 ^{ns}
Família 14				1,07	
Família 24				0,05	
Família 27				0,00	
Família 12				0,15	
Família 18				1,83	

continuação da Tabela 8

Família 06				1,57	
Família 25				0,29	
$\hat{t}_m$				1,050 (0,08)	
E.E.S.					
Freq. alélica estimada					
Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	$\hat{t}_s$	χ^2
Pgm-1	1	0,500	1,000	0,004 (0,65)	0,000 ^{ns}
	2	0,950	0,000		
Pgi-1	1	0,837	1,000	0,330 (0,04)	0,000 ^{ns}
	2	0,163	0,000		
Pgi-2	1	0,831	1,000	0,155 (0,06)	0,000 ^{ns}
	2	0,169	0,000		
6Pgdh-1	1	0,972	1,000	0,268 (0,06)	0,000 ^{ns}
	2	0,028	0,000		
Est-1	1	0,467	0,750	0,869 (0,06)	4,058 ^{ns}
	2	0,513	0,250		
	3	0,021	0,000		
Lap-1	1	0,999	1,000	0,001 (0,28)	0,000 ^{ns}
	2	0,001	0,000		
Lap-2	1	0,996	0,938	1,999 (0,04)	3,602 ^{ns}
	2	0,004	0,063		
Média				0,518 (0,17)	
$\hat{t}_m - \hat{t}_s$				0,532	

E.E.S. = Estação Ecológica do Seridó

Tabela 9. Frequência alélica estimada nos pólen e nos óvulos e qui-quadrado para a adequação ao modelo de cruzamento misto; estimativas da taxa de cruzamento multilocos ($\hat{t}_m$) e unilocos ($\hat{t}_s$) para a população natural de *M. urundeuva* do S.M.A., com doze famílias e 5 locos. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

S.M.A.					
Loco	Alelo	Freq. alélica estimada		$\hat{t}_m$	χ^2
		Pólen	Óvulo		
Pgm-1	1	0,993	0,958		0,567 ^{ns}
	2	0,070	0,042		
Pgi-1	1	0,953	1,000		0,000 ^{ns}
	2	0,047	0,000		
6Pgdh-1	1	0,973	1,000		0,000 ^{ns}
	2	0,270	0,000		
Lap-1	1	0,994	1,000		0,000 ^{ns}
	2	0,006	0,000		
Lap-2	1	0,982	1,000		0,000 ^{ns}
	2	0,018	0,000		
Família 20				1,24	
Família 01				0,76	
Família 22				0,00	
Família 21				0,47	
Família 09				0,00	
Família 28				0,44	
Família 12				1,01	
Família 30				0,00	
Família 03				0,00	
Família 07				1,03	
Família 29				0,25	
Família 11				0,48	
$\hat{t}_m$				0,815 (0,04)	

continuação da Tabela 9

		S.M.A.		$\hat{t}_s$	χ^2
Loco	Alelo	Freq. alélica estimada			
		Pólen	Óvulo		
Pgm-1	1	0,999	0,950	0,742 (0,02)	0,666 ^{ns}
	2	0,001	0,050		
Pgi-1	1	0,859	1,000	0,274 (0,05)	0,000 ^{ns}
	2	0,141	0,000		
6Pgdh-1	1	0,880	1,000	0,186 (0,05)	0,000 ^{ns}
	2	0,120	0,000		
Est-1	1	0,635	0,571	0,957 (0,07)	2,319 ^{ns}
	2	0,262	0,429		
	3	0,103	0,000		
Lap-1	1	0,757	1,000	0,019 (0,21)	0,000 ^{ns}
	2	0,243	0,000		
Lap-2	1	0,928	1,000	0,204 (0,04)	0,000 ^{ns}
	2	0,072	0,000		
Mdh-1	1	0,999	0,917	0,001 (0,57)	37,283 **
	2	0,001	0,083		
Média ($\hat{t}_s$)				0,340 (0,14)	
$\hat{t}_m - \hat{t}_s$				0,475	

S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

As taxas de cruzamento multilocos encontradas para a população da E.E.S. foram de $1,050 \pm 0,08$ e, para o S.M.A., de $0,815 \pm 0,04$ (Tabela 8 e 9). A taxa de cruzamento para cada família variou entre 0,00 e 1,83 na E.E.S. e entre 0,00 e 1,24 no S.M.A. Foi calculada, também, a estimativa da taxa de cruzamento unilocos ($\hat{t}_s$), bem como a sua média, que foi de $0,52 \pm 0,17$ na E.E.S. e de $0,34 \pm 0,14$ no S.M.A. (excluindo o Mdh-1, que não se adequou ao modelo; conforme Tabela 9). Apesar de não existirem estudos que comprovem a apomixia em aroeira, os valores zero da taxa de cruzamento para uma família

na E.E.S. e para quatro famílias no S.M.A. mostram indícios de que talvez seja possível este fenômeno acontecer com essa espécie. Segundo Ashton (1984), a presença de apomixia em espécies tropicais é um fenômeno relativamente comum.

Dos sete locos utilizados para a análise de $\hat{t}_m$ na E.E.S., somente um apresentou diferença estatística entre as frequências alélicas dos poléns e dos óvulos. As frequências alélicas dos óvulos com as plantas adultas, dos sete locos analisados, nenhum difere estatisticamente, bem como as frequências alélicas dos poléns e das árvores adultas (Tabela 14 dos ANEXOS). E isto sugere que o polén recebido pelas 14 árvores matrizes é representativo da população de árvores adultas como um todo. Comportamento semelhante foi observado no S.M.A. para os cinco locos analisados (Tabela 15 dos ANEXOS).

As duas populações de *M. urundeuva* (presente estudo) apresentaram altas taxas de cruzamento ($\hat{t}_{m\text{E.E.S.}} = 1,050$ e $\hat{t}_{m\text{S.M.A.}} = 0,815$), que são comparáveis às estimativas de outras espécies arbóreas da América tropical como a *Sorocea affinis*, $\hat{t}_m = 1,089 \pm 0,045$ e $\hat{t}_m = 0,969 \pm 0,020$ (Murawski & Hamrick, 1991), *Genipa americana* $\hat{t}_m = 0,816 \pm 0,051$ (Sebbenn, 1997). As nossas populações de *M. urundeuva*, ainda, apresentaram estimativas de taxa de cruzamento bem maiores que a taxa de cruzamento de equilíbrio ou aparente encontrada por Moraes (1992) para a mesma espécie na Mata Atlântica e no Cerrado, ($\hat{t}_{eq} = 0,338$).

A diferença entre a taxa de multilocos e taxa de unilocos ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$) foi positiva para a população da E.E.S. (0,532), ou seja, em aproximadamente 50% da população apresenta cruzamentos entre indivíduos aparentados. Para a população do S.M.A. (0,475), aproximadamente 48% dos cruzamentos são entre indivíduos aparentados. Ritland (1990) cita que essa diferença positiva

entre $\hat{t}_m$ e $\hat{t}_s$ indica a ocorrência de endogamia decorrente do cruzamento entre indivíduos aparentados. Outro ponto que evidencia o cruzamento entre indivíduos aparentados é o da taxa de cruzamento multilocos, que foi maior que a de cruzamento unilocos (Shaw & Allard, 1982). Como causas gerais da endogamia, Torggler et. al. (1995) relacionam a restrição do tamanho da população e as variações no sistema de cruzamento (como as modificações na estrutura floral, que favorecem a autofertilização, ou cruzamento não ao acaso e os cruzamentos preferenciais entre genótipos similares). Como *M. urundeuva* é uma espécie dióica, a endogamia elevada pode ser explicada por uma possível sincronia fenológica entre aparentados.

4.7 Estatísticas F

As estimativas dos índices de fixação dentro da população ($\hat{F}_{IS}$), para a espécie ($\hat{F}_{IT}$) e a medida de diferenciação entre as populações ($\hat{F}_{ST}$) encontram-se na Tabela 10, para cada um dos locos e alelos analisados:

Tabela 10. Índices de Fixação ($\hat{F}_{IS}$, $\hat{F}_{IT}$ e $\hat{F}_{ST}$) médios para duas populações naturais de *M. urundeuva*, estimados a partir de indivíduos adultos (4 locos) e de progênies (8 locos). Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	Adultos			Progênies		
	$\hat{F}_{IS}$	$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$	$\hat{F}_{IS}$	$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$
Pgm-1	-0,056	-0,027	0,027 ^{ns}	0,213	0,218	0,006 ^{ns}
Pgm-2	-0,042	-0,041	0,000 ^{ns}			
Pgi-1				-0,028	-0,028	0,000 ^{ns}
Pgi-2				-0,013	-0,007	0,007 ^{ns}
Mdh-1	-0,034	-0,017	0,017 ^{ns}	0,812	0,825	0,067**
6Pgdh-1				-0,016	-0,010	0,006 ^{ns}
Est-1	-0,403	-0,380	0,016 ^{ns}	-0,101	-0,098	0,002 ^{ns}
Lap-1				-0,002	-0,002	0,000 ^{ns}
Lap-2				-0,040	-0,025	0,014**
Médias	-0,309	-0,289	0,015	0,064	0,077	0,014

** P < 0,01; ns - não significativo

As estimativas médias obtidas (Tabela 10) mostram endogamia total reduzida para progênies (0,077) e excesso de heterozigotos para os indivíduos adultos (-0,289). Além disso, as estimativas médias dentro das

populações de adultos ($\hat{F}_{IS}$) também com excesso de heterozigotos (-0,309), indicando um comportamento semelhante nas populações individuais.

As estimativas de $\hat{F}_{ST}$ obtidas para os locos Mdh-1 e Lap-2 das progênies indicaram uma divergência reduzida. Segundo Reis (1996), as divergências sugerem a existência de efeitos de deriva e/ou de seleção, e que a inexistência de divergência indica que os efeitos de deriva e/ou seleção são de menor expressão.

Os resultados de $\hat{F}_{ST}$ obtidos para *M. urundeuva* no presente estudo foram baixos em todos os locos, nos adultos e nas progênies, mesmo sendo significativamente diferentes de zero em 2 locos.

A grandeza destas estimativas é similar às obtidas para espécies tropicais já estudadas: *Astrocarium mexicanum*, $\hat{F}_{ST} = 0,039$ para indivíduos adultos e $\hat{F}_{ST} = 0,009$ em progênies (Eguiart et al., 1992); *Psychotria faxlucens*, $\hat{F}_{ST} = 0,031$ em adultos e $\hat{F}_{ST} = 0,026$ em progênies (Pérez-Nasser et al., 1993); *Cecropia obtusifolia*, $\hat{F}_{ST} = 0,029$ (Alvarez-Buylla & Garay, 1994); *M. urundeuva*, $\hat{F}_{ST} = 0,049$ (Moraes, 1992); para sete populações a partir de progênies e oito populações a partir de indivíduos adultos de *Euterpe edulis*, os $\hat{F}_{ST}$ variaram entre 0,011 e 0,026 e entre 0,009 e 0,037, respectivamente (Reis, 1996).

Em um estudo realizado na região da Mata Atlântica e no Cerrado com *M. urundeuva*, foram encontrados valores de índices de fixação ($\hat{F}_{IS}$, $\hat{F}_{IT}$, $\hat{F}_{ST}$) positivos para as progênies. Os altos valores de $\hat{F}_{IS} = 0,499$ e $\hat{F}_{IT} = 0,517$ indicaram deficiência de heterozigotos para os dois locos analisados (AAT-1 e LAP-2). Essa deficiência de heterozigotos também foi detectada para as progênies nas duas populações do semi-árido (presente estudo), mas em um nível bem reduzido, $\hat{F}_{IS} = 0,064$ e $\hat{F}_{IT} = 0,077$, para os oito locos analisados

(Pgm-1, Pgi-1, Pgi-2, Mdh-1, 6Pgdh-1, Est-1, Lap-1 e Lap-2). Considerando que *M. urundeuva* é uma espécie dióica, essa endogamia pode ser consequência do cruzamento entre indivíduos aparentados.

Entre os vários fatores causadores da endogamia citados na literatura, Moraes (1992) cita o efeito “gargalo”, por causa desse efeito a heterozigosidade média no começo é baixa (Tabela 5), tendendo a subir à medida em que a população aumenta. Para as populações estudadas na Mata Atlântica e no Cerrado, uma das conclusões foi a de que os indivíduos remanescentes de derrubadas de florestas primárias teriam iniciado a nova colonização da aroeira, acarretando baixos valores de heterozigosidade média e altos coeficientes de endogamia. No semi-árido pode estar ocorrendo o mesmo, uma vez que a região sofre bastante com a exploração dos recursos florestais, sendo a aroeira muito procurada.

As populações do semi-árido no presente estudo, apresentaram variação genética *dentro* média e pequena divergência *entre* populações, o que é bastante coerente pois, segundo Loveless & Hamrick (1984) (Tabela 1, dos ANEXOS), as espécies tipicamente alógamas apresentam *alta* variação genética *dentro* e *pequena entre* populações, pois a divergência entre populações é reduzida devido ao aumento do fluxo de pólen.

4.8 Estrutura espacial dos genótipos

A Tabela 11 mostra os resultados do Índice I de Moran para a conexão de Gabriel e vizinho mais próximo, para duas populações naturais de *M. urundeuva* (E.E.S. e S.M.A.).

Tabela 11. Estimativa do Índice I de Moran para duas populações naturais de *M. urundeuva*, através dos coeficientes de autocorrelação espacial (I de Moran) para a conexão de Gabriel (I_g) e vizinho mais próximo (I_{vmp}). Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	Alelo	E.E.S.		S.M.A.	
		I_g	I_{vmp}	I_g	I_{vm}
Pgm-1	1			-0,349 ^{ns}	-0,288 ^{ns}
Pgm-2	1	0,032 ^{ns}	0,236 ^{ns}	-0,341 ^{ns}	-0,278 ^{ns}
Est-1	1	0,263 ^{ns}	0,242 ^{ns}	-0,349 ^{ns}	-0,284 ^{ns}
Mdh-1	1			-0,345 ^{ns}	-0,282 ^{ns}
Distância média (m)		17,81 ± 10,74	11,17 ± 6,03	8,84 ± 6,6	5,69 ± 4,1
Número de comparações		46	21	30	21

E.E.S.= Estação Ecológica do Seridó; S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

Os resultados obtidos para o I de Moran usando-se os métodos de conexão de Gabriel e vizinho mais próximo, analisando-se a população da E.E.S. (dois alelos), apesar de positivos, não são significativos, ou seja, não mostram uma estrutura espacial. Em ambas as populações (E.E.S. e S.M.A.) não foi detectada a presença de estruturação espacial, o que sugere, dessa forma, uma distribuição aleatória dos genótipos dentro delas. A ausência de estruturação espacial, detectada nas populações, não significa que não

existam indivíduos aparentados. Como já mencionado, para algumas populações naturais de espécies arbóreas tropicais já estudadas, tal padrão não tem sido encontrado tais como em *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Aspidosperma polyneuron* (Maltez, 1997), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997) e *Chorisia speciosa* (Souza, 1997).

Os índices I de Moran para as 9 classes de distância (E.E.S.) e para as 13 classes (S.M.A.) podem ser observados na Tabela 12a e 12b, respectivamente . A flutuação dos índices para os locos analisados, bem como o índice médio, encontram-se nos correlogramas das Figuras 5, 6 e 7.

Tabela 12a. Coeficientes de autocorrelação espacial (I de Moran) para 9 classes de distância, distância média entre indivíduos pareados e número de comparações, para a população de *M. urundeuva* na E.E.S. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

		▼ Classes de Distâncias E.E.S.								
Loco	Alelo	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Pgm-2	1	0,293 ^{ns}	-0,111 ^{ns}	-0,046 ^{ns}	-0,011 ^{ns}	0,136 ^{ns}	-0,094 ^{ns}	-0,141 ^{ns}	0,408 ^{ns}	-0,966 ^{ns}
Est-1	1	0,164 ^{ns}	0,104 ^{ns}	-0,106 ^{ns}	0,128 ^{ns}	-0,066 ^{ns}	-0,002 ^{ns}	-0,099 ^{ns}	-0,560 ^{ns}	-0,674 ^{ns}
I médio		0,229	-0,004	-0,076	0,059	0,035	-0,048	-0,12	-0,076	-0,82
Dist. Média		8,71	23,41	37,35	53,39	66,28	82,49	97,19	111,40	126,03
(m) (DP)		(3,55)	(3,98)	(4,39)	(4,17)	(4,33)	(4,47)	(4,35)	(4,03)	(4,76)
número de comparações		26	69	63	78	76	84	44	34	16

ns (não significativo); **P<0,01; E.E.S. = Estação Ecológica do Seridó

▼ Classes de distâncias em metros: A, 0-15; B, 15-30; C, 30-45; D, 45-60; E, 60-75; F, 75-90; G, 90-105; H, 105-120; I, 120-135

Figura 5. Correlogramas dos alelos Pgm-2 (alelo 1) e Est-1 (alelo 1) e para média de 2 locos considerando 9 classes de distância (* indica autocorrelação significativa), para uma população de *M. urundeuva* na E.E.S. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Tabela 12b. Coeficientes de autocorrelação espacial (I de Moran) para 13 classes de distância, distância média entre indivíduos pareados e número de comparações, para uma população de *M. urundeuva* no S.M.A. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

♥♥Classes de Distâncias														
S.M.A														
Loco	Alelo	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	L	M	N
Pgm-1 ⁽¹⁾	1	-0,210	0,086	0,003	-0,016	0,075	0,132	-0,206	0,039	-0,121	-0,044	-0,107	-0,021	-0,143
Pgm-2 ⁽¹⁾	1	-0,205	0,093	0,004	-0,011	0,074	0,137	-0,207	0,035	-0,126	-0,048	-0,111	-0,030	-0 148
Est-1 ⁽¹⁾	1	-0,209	0,090	0,006	-0,014	0,079	0,134	-0,211	0,036	-0,125	-0,043	-0,113	-0,027	-0,137
Mdh-1 ⁽¹⁾	1	-0,208	0,089	0,003	-0,016	0,075	0,134	-0,203	0,043	-0,125	-0,049	-0,111	-0,024	-0,148
I médio		-0,208	0,089	0,004	-0,014	0,076	0,134	-0,207	0,038	-0,124	-0,046	-0,111	-0,026	-0,144
Dist. Média		08,09	24,65	30,47	55,60	72,20	87,85	102,77	119,85	135,99	151,15	180,63	215,31	254,70
(m) (DP)		(4,27)	(4,29)	(4,7)	(4,74)	(4,72)	(4,58)	(4,44)	(4,70)	(4,94)	(4,49)	(11,07)	(8,91)	(11,93)
número de comparações		40	55	42	50	50	29	34	36	29	30	54	31	16

(1) Todos os locos apresentaram valores de I não significativos; S.M.A.= Sítio Mata dos Alves

♥♥Classes de distância em metros: A, 0-16; B, 16-32; C, 32-48; D, 48-64; E, 64-80; F, 80-96; G, 96-112; H, 112-28; I, 128-144; J, 144-160; L, 160-200; M, 200-240; N, 240-280.

Figura 6. Correlogramas dos alelos Pgm-1 (alelo 1), Pgm-2 (alelo 1) e Est-1 (alelo 1) considerando 13 classes de distância, para uma população de *M. urundeuva* no S.M.A. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Figura 7. Correlograma para a média dos 4 alelos considerando 13 classes de distância, para uma população de *M. urundeuva* no S.M.A. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Dos 18 valores obtidos na E.E.S. (Tabela 12a) apenas 2 apresentaram-se significativos (11,1%). Apenas o loco Pgm-2 na classe I (E.E.S.) apresentou uma tendência de pontos significativos positivos. O que não chega a evidenciar formação de estrutura familiar.

Analisando-se as médias dos valores do índice I na população da E.E.S. dos 2 locos em cada classe de distância (Figura 5), observa-se que o índice mantém-se praticamente constante, demonstrando assim a não formação de uma estrutura espacial significativa, a não ser para as duas últimas classes. Para as médias dos 4 locos da população do S.M.A., apesar das variações demonstradas (Figura 7), as mesmas foram não significativas, portanto, sem formação de estrutura espacial, ou seja, os genótipos encontram-se distribuídos aleatoriamente dentro das populações.

Como foi detectada a existência de endogamia nas populações, por cruzamento entre aparentados, a não existência de uma clara estruturação familiar nas populações podem supor fatores associados à uma compatibilidade fenológica na floração.

5. CONCLUSÕES

A diversidade genética encontrada nas populações de *Myracrodruon urundeuva* ($\hat{H}_{o_{E.E.S.}} = 0,076$ e $\hat{H}_{o_{S.M.A.}} = 0,121$) foi muito próxima aos valores médios das espécies arbóreas tropicais já estudadas, embora as progênes tenham evidenciados níveis mais baixos. Em estudo realizado com *M. urundeuva* na região de Bauru (SP) e Selvíria (MS), os valores foram muito próximos (0,140 e 0,160, respectivamente) aos do presente estudo.

As populações do presente estudo apresentaram altas taxas de cruzamento ao acaso ($\hat{t}_{m_{E.E.S.}} = 1,050$ e $\hat{t}_{m_{S.M.A.}} = 0,815$) e distribuição aleatória dos genótipos.

A não estruturação espacial, apresentada pelas populações, mostra uma evidência de que o fluxo gênico é amplo o suficiente para prevenir a formação de estrutura a partir da deriva genética e/ou seleção local. Apesar de não haver essa estruturação espacial, a diferença entre as taxas de multilocos e unilocos revelaram altos índices de endogamia ($\hat{f}_{E.E.S.} = 0,532$ e $\hat{f}_{S.M.A.} = 0,475$), sugerindo estar ocorrendo cruzamento entre indivíduos aparentados no evento reprodutivo estudado.

A partir da análise direta das frequências alélicas, ficou perceptível que a população perturbada (área secundária), em comparação a população "primária", não apresentou níveis de perdas de diversidade genética. Com relação, ao sistema reprodutivo, a única alteração foi apresentada pela redução na taxa de cruzamento multilocos, para a população

perturbada. Portanto, pela hipótese inicial na qual a população secundária apresentaria alteração na sua estrutura genética e no sistema reprodutivo, os dados do presente estudo mostram que essa alteração genética não é perceptível num curto período de perturbação sofrida pela mesma.

Os resultados obtidos no presente estudo possibilitarão a formação de um ponto de auxílio para a conservação da espécie, a produção de sementes e a coleta de germoplasma. Contribuirá, dessa forma, para a manutenção dos atuais núcleos de florestas “primárias” com a sua biodiversidade natural, melhorar qualitativamente a composição das atuais formações florestais secundárias e recuperação das áreas degradadas.

BIBLIOGRAFIA

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. UFV, Viçosa - MG. 1991. 242p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E.R.; GARAY, A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species. **Evolution**, v.48, n.2, p.437-53, 1994.
- 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.
- BARRETT, S.K.H.; KON, J.R. Genetic and Evolutionary Consequences of Small Population Size in Plant: Implications for Conservation. In: FALK, D.A. & HOLSINGER, K.E. (eds). **Genetics and Conservation of Rare Plants**. Oxford University Press. 1991, Cap. 1.
- BAWA, K.S. Breeding systems of trees species of a lowland tropical community. **Evolution** v.28, p.85-92, 1974.
- BAWA, K.S.; KRUGMAN, S.L. **Reproductive biology and genetics of tropical forest trees in relation to conservation and management**. 1986.
- BAWA, K.S.; O'MALLEY, D.M. Estudios genéticos y de sistemas de cruzamiento em algunas especies arbóreas de bosques tropicales. **Rev. Biol. Trop.**, v.35(Supl.1), p.177-88, 1987.
- BAWA, K.S.; PERR, D.R.; BEACH, J.H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, v.72, p. 331-35, 1985.
- BAWA;K.S; ASHTON, P.S. Conservation of rare trees in tropical rain forest: a genetic perspective. In: HOISINGER, D. e FALK, A. (eds). **Genetics and Conservation of Rare Plants**. St. Louis, M.O. p.62-74. 1991.

- BRIGGS, D.; WALTERS, S.M. **Plant variation and evolution**. Cambridge University Press. Cambridge. p. 411, 1984.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo - PR, EMBRAPA - CNPF.. 1994. 640p.
- CHAPIN III, F.S.; RINCON, E.; HUANTE, P. Environmental response of plants and ecosystems as predictors of the impact of global change. **Journal of Bioscience**, v. 18 (4), p.515-24, 1993.
- CLAYTON, J.; TETRIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **J. Fisheries Res. Board. Can.**, v.29, p.1169-72, 1972.
- CLEGG, M.T. Measuring plant mating systems. **Bioscience**, v.30, n.12, p. 814-18, 1980.
- DUQUE, G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 3ª ed. Mossoró: Fundação Guimarães Duque, 1980. 316p.
- EGUIART, L.E.; PÉREZ-NASSER, N.; PIÑERO, D. Genetic structure outcrossing rate and heterosis in *Astricarium mexicanum* (Tropical palm): implications for evolution and conservation. **Heredity**, v.69, p.217-28, 1992.
- EL-KASSABAY; Y.A.; RITLAND, K. Effect of family size and number on the accuracy and precision of the estimates of genetic parameters in the iufro *Douglas-fir*. **Forest Ecology and Management**, v.18, n.1, p.35-48, 1987.
- FAO. **Databook on endangered tree and shrub species and provenances**. Rome, 1986. p.116-25.
- FERNANDES, A. Biodiversidade do Semi-Árido Nordeste. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. **Anais**. São Paulo: IFSP, março/1992. v.4, p.119-24.
- FLORSHEIM, S.M.B. Variações da estrutura anatômica e densidade básica da madeira de árvores de aroeira *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão (Anacardiaceae). Piracicaba, 1992. 252p. Dissertação (Ms) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- FUTUYMA, D.J. **Biologia Evolutiva**. 2ª ed. Ribeirão Preto: SBG/CNPq, 1992. 631p.

- GANDARA, F.B. Diversidade Genética, Taxa de Cruzamento e Estrutura Espacial dos Genótipos em uma População de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae). Campinas, 1996. 69p. Dissertação (M.S.) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas).
- HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, v.7, p.395-99, 1991.
- HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural forest population. In: C.M. SCHONEWLD-COX, S.M. CHAMBERS, B.Macbryde e W.L. THOMAS (eds.). **Genetics and Conservation**. The Benjamin/Cummings Publishing Company. 1983. p.335-48.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L. e WEIR, B.S. (eds.). **Plant Population Genetics Resources**. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. 1990, p.43-63.
- HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, v.18, p. 383-394, 1986.
- HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. The genetic structure of tropical tree populations: association with reproductive biology. In: BOCK, J.H. & LINHART, Y.B. eds. **The evolutionary ecology of plants**. Westview Press, Boulder, CO, USA., 1989. p.129-46.
- INOUE, M.T. Alterações na Biosfera e a Biodiversidade: Constatações e Estratégias. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. **Anais**. São Paulo: IFSP, março/1992. v.4 p.748-50.
- KAGEYAMA, P. Y. **Conservação "in situ" de recursos genéticos de plantas**. Piracicaba: IPEF, v.35, p. 7-37, 1987.
- KAGEYAMA, P.Y. Genetic structure of tropical tree species of Brazil. In: BAWA, K.S.; HADLEY, M (eds). **Reproductive Ecology of tropical forest plants**. UNESCO and Parthenon Publishing. 1990. p. 383-394.
- LACERDA, C.M.B. de; FERRAZ, E.M.; KAGEYAMA, P.Y. Variabilidade Alostímica em duas Populações de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão) no Semi-Árido. (Fase I). **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n.3, p. 284, 1996. Suplemento. /Apresentado ao 42º Congresso Nacional de Genética, Caxambu, 1996 - Resumo/

- LEPSCH-CUNHA, N. Estrutura Genética e Fenologia de espécies raras de *Couratari* spp. (LECYTHIDACEAE) na Amazônia Central. Piracicaba, 1996. 147p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- LEVIN, D.A.; KESTER, K.W. Gene flow in seed plants. **Evolutionary Biology**, v.7, p. 139-220, 1974.
- LI, C.C.; HORVITZ, D.G. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. **The American Journal of Human Genetics**, v.5, n.2, p. 107-17, 1953.
- LOISELLE, B.A.; SORK, V.L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spacial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinnalis* (Rubiaceae). **Am. Journal of Botany**, v.82, n.11, p.1420-1425, 1995.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Distribución de la variación en especies de árboles tropicales. **Rev. Biol. Trop.**, v.35 (Supl.1), p. 165-75, 1987.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. **Ecology Systematics**. 1984. p.65-95.
- MALTEZ, H. M. Estrutura genética de *Aspidoperma polyneuron* Muell. Arg. - Apocynaceae (Peroba Rosa) em uma floresta estacional semidecídua no Estado de São Paulo. Campinas, 1997. 132p. Dissertação (M.S.) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- MEDEIROS, A.C. de S. Comportamento Fisiológico, Conservação de Germoplasma a Longo Prazo e Previsão de Longevidade de Sementes de Aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.). Jaboticabal, 1996. 127p. Tese (Doutorado), - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP.
- MENDES, B.V. O semi-árido brasileiro. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2. **Anais**. São Paulo: IFSP, março/1992. v.4, p.394-99.
- MORAES, M.L.T. 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 (Doutorado), - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- MORI, E.S. Variabilidade genética isoenzimática em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden submetida a diferentes intensidades de seleção. Piracicaba, 1993. 119p. Tese (Doutorado), - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- MURAWSKI, D.A.; DAYANANDAN, B e BAWA, K.S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forest. **Biotropica**, v.26, n.1, p. 2329, 1994.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, v.67, p. 167-174, 1991.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v.70, n.12, p. 3321-3, 1973.
- NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Ann. Human. Genet.**, v.41, p. 225-33, 1977.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. Columbia University Press, N.Y., USA. 1987.
- O'MALLEY, D.M.; BAWA, K.S. Mating system of a tropical rain forest tree species. **American journal of botany**, v.74, n.8, p.1143-49, 1987.
- O'MALLEY, D.M.; BUCKLEY, D.P.; PRANCE, G.T.; BAWA, K.S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb & Bonpl.: Lecythidaceae): 2 Mating system. **Theoretical and Applied Genetics**, v.76, p. 929-32, 1988.
- PAIVA, J.R. Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd) ex Adr. de Juss) Muell. Arg.). Piracicaba, 1992. 144p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- PAIVA, J.R.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOSKY, R.; CONTEL, P.B. Genetics of rubber tree (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss) Müll. Arg.). I. Genetic variation in natural population. **Silvae Genetica**, v.43, n.5/6, p.307-12, 1994.
- PÉREZ-NASSER, N.; EGUIARTE, L.E.; PIÑERO, D. Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v.80, n.1, p. 45-52, 1993.
- PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926. v.3, p.443-4.

PNUD/FAO/IBAMA/BRA/87/007, 1993. **Visão Resumida do Setor Florestal e o Papel do Projeto PNUD/FAO/IBAMA/BRA/87/007.**

REIS, M.S. Distribuição e Dinâmica da Variabilidade Genética em Populações Naturais de Palmeiro (*Euterpe edulis* MARTIUS). Piracicaba, 1996. 210p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

RITLAND, K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. **The Journal of Heredity.**, v.81, n.3, p. 235-7, 1990.

RITLAND, K.; EL-KASSABAY, Y.A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas-fir as show by an efficient multilocus model. **Theor. Appl. Genet.**, v.71, p. 374-84, 1985.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity**, v.47, n.1, p. 35-52, 1981.

RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**: manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Edgard Blücher/EDUSP, 1971. 294p.

SANTIN, D.A. Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e reavaliação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allem. (Anacardiaceae). Campinas, 1989. 178p. Dissertação (M.S.) - UNICAMP.

SANTOS, E.M.G. Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpiniaceae). Piracicaba, 1994. 114p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP.

SEBBENN, A.M. Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (RUBIACEAE) a partir de isoenzimas. Piracicaba, 1997. 107p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

SHAW, D.V.; ALLARD, R.W. Estimation of outcrossing rates in Douglas-fir using isozyme markers. **Theor. Appl. Genet.**, v.62, p. 113-20, 1982.

SILVA, L.B.X. da. Avaliação do comportamento inicial de diversas essências nativas e exóticas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE ECOLOGIA, 1. Curitiba, 1978.

SLATKIN, M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, v.236, p. 787-92, 1987.

- SOKAL, R.R.; ODEN, N.L. Spatial autocorrelation in biology 2 Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. **Biol. J. Linn. Soc.**, v.10, p. 229-249, 1978b.
- SOKAL, R.R.; ODEN, N.L. Spatial autocorrelation in biology I Methodology. **Biol. J. Linn. Soc.**, v.10, p.119-228, 1978a.
- SOLTIS, D.E.; HAUFLE, C.H.; DARROW, D.C.; GASTONY, G.L. Start gel electrophoresis of ferns: a compilation of griding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. **American Fern Journal**, v.73, n.1, p.9-26, 1983.
- SOUZA, L.M.F.I. de. Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (BOMBACACEAE) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP) - Brasil. Piracicaba, 1997. 76p. Dissertação (M.S.) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- STUBER, C.W.; WENDEL, J.F.; GOODMAN, M.M.; SMITH, J.S.C. **Techniques and Scoring Procedures for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Maize (*Zea mays* L.)**. Technical bulletin, 286, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina. 1988. 87p.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. **Biosys -1**. A computer program analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1, 7. David L. Swofford. Illinois Natural History Survey All Rights Reserved, Illinois, 1989.
- TORGGLER, M.G.F.; CONTEL, E.P.B.; TORGGLER, S.P. **Isoenzimas: Variabilidade Genética em Plantas**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, Série Monografias, 1. 1995, 175p.
- VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. In: **Congresso Latino Americano de Genética, 10^o**, Rio de Janeiro: Proceedings, Revista Brasileira de Genética, v.15, (Suplemento 1), p. 53-60.1992.
- VENCOVSKY, R. Estimadores de diversidade. In: KAGEYAMA, P.Y.; REIS, M.S.; GANDARA, F.B., coordenadores do curso: **"Estimação de variação genética e taxa de cruzamento em populações de espécies arbóreas"**. Promoção: Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas, Dep. de Ciências Florestais-ESALQ/USP. Manuscrito não publicado, 1993. 82p.
- VENCOVSKY, R. Variance of an estimate of outcrossing rate. **Revista Brasileira de Genética**, v.17, n.3, p. 349-51, 1994.

WEIR, B.S. **Genetics data analysis. Methods for discrete population genetic data.** North Caroline State University, Sinauer Associates Inc. Pub., Sunderland, Massachusetts. 377p. 1990.

WORKMAN, P.L.; NISWANDER, J.D. Population studies on Southwestern Indian tribes II. Local genetic differentiation in the Papago. **Am. J. Human Genet.**, v.22, p. 24-49, 1970.

WRIGHT, S. Coefficients of inbreeding and relationship. **American Naturalist**, v.56, p. 330-8, 1922.

WRIGHT, S. Evolution in Medelian populations. **Genetics**, v.16, p. 97-159, 1931.

ANEXOS

ANEXO I

1. Protocolo para enzimas da aroeira (*M. urundeuva*). Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

PGM (método modificado de Alfenas et al., 1991)

Glucose-1-fosfato, Na ₂	125 mg
EDTA	25 mg
NADP ⁺ , Na ₂	1 ml (10 mg)
MTT ou NBT	1 ml (10 mg)
PMS	1 ml (01 mg)
MgCl ₂ (1%)	1 ml (10 mg)
Tampão TRIS-HCL 0,1M, pH: 8,0-8,5 (q.s.p.)	50 ml
Glucose-6-fosfato desidrogenase (G ₆ PDH)	0,02 ml (20 un.)

PGI (método modificado de Alfenas et al., 1991)

Frutose-6-fosfato, Na ₂	40 mg
NADP ⁺ , Na ₂	1 ml (10 mg)
MTT ou NBT	1 ml (10 mg)
PMS	1 ml (1 mg)
MgCl ₂ (1%)	1 ml (10 mg)
Tampão TRIS-HCL 0,1M, pH: 8,0 (q.s.p.)	50 ml
Glucose-6-fosfato desidrogenase (G ₆ PDH)	0,01 ml (10 un.)

6PGDH (método modificado de Alfenas et al., 1991)

Ácido 6-fosfogluconico	20 mg
NADP ⁺ , Na ₂	1 ml (10 mg)
MTT ou NBT	1 ml (10 mg)
PMS	1 ml (1 mg)
MgCl ₂ (1%)	1 ml (10 mg)
Tampão TRIS-HCL 0,1M, pH: 8,0 (q.s.p.)	50 ml

MDH (método modificado de Alfenas et al., 1991)

DL-Ácido Málico 0,5M, pH: 8,0	04 ml
MTT ou NBT	1 ml (10 mg)
NAD	1 ml (10 mg)
PMS	1 ml (1 mg)
Tampão TRIS-HCL 0,1M, pH: 8,5	50 ml

GOT (método modificado de Alfenas et al., 1991)**Solução A:** (pode ser preparada em estoque)

Ácido L-Aspártico	75 mg
Ácido α -Ketoglutárico	50 mg
Tampão TRIS-HCL 0,2M, pH: 8,0	50 ml

Coloração:

Solução A	50 ml
*Peridoxal-5-fosfato	2,5 mg
*Fast Blue BB salt	50 mg

* adicionar na hora da coloração; incubar o gel no escuro (sensível a luz).

LAP (método modificado de Moraes, 1992)

L-Leucina	30 mg /10 ml H ₂ O
Fast Black K salt (dissolvido em 2 ml de Metanol 10%)	30 mg
Tampão TRIS-MALEATO, pH: 5,4	20 ml
Água destilada	50 ml

Tampão Tris -Maleato

Tris 0,1M	12,11 g/l
Anidrido maléico 0,1M	9,806 g/l

 α -EST (método modificado de Mori, 1993)**Solução A**

α -Naftil acetato	40 mg/1 ml de acetona 50%
--------------------------------	---------------------------

Tampão Fosfato de Sódio 0,05M, pH: 6,0 40 ml

Solução B

Fast Garnet GBC 30 mg

Tampão Fosfato de Sódio 0,05M, pH: 6,0 40 ml

- Imergir o gel na **solução A** por 20', em seguida adicionar a **solução B**.

Tampão Fosfato de Sódio

a) Fosfato bibásico 0,025M 500 ml

b) Fosfato monobásico 0,025M 500 ml

Procedimento para coloração dos sistemas:

Os reagentes eram diluídos nos tampões e os géis imersos na solução e incubados no escuro por aproximadamente 40 - 60 minutos a 35° C.

Anexo II

Tabela 1. Resumo dos fatores ecológicos que podem afetar a estrutura genética de populações e seus efeitos, de Loveless & Hamrick (1984). Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Fatores Ecológicos	Estrutura Genética entre Populações	Estrutura Genética dentro de Populações
<u>Sistema de Cruzamento</u>		
Autogamas ou endogâmicas	Aumenta a divergência devido a deriva e redução do fluxo gênico	Reduz a heterozigosidade e diversidade genotípica dentro de família; aumenta a variação genética entre família; baixo N_e e N_a ; migração gênica limitada e subdivisão da população alta
Cruzamento misto	Potencial para diferenciação: depende do nível de autofecundação e pode variar no tempo	Potencialmente subdividida; depende do balanço entre autogamia e alogamia
Predominantemente alogamas	Reduz a divergência devido ao aumento do fluxo de pólen	Aumenta o N_e , N_a e reduz a subdivisão
<u>Morfologia Floral</u>		
Hermafrodita	Depende do sistema de cruzamento; autofecundação promove divergência	Potencial para subdivisão; depende do sistema de cruzamento e movimento de pólen; morfologia floral afeta a polinização e transporte de pólen, alterando o N_e e N_a para cima ou para baixo

continuação da Tabela 1

Fatores Ecológicos	Estrutura Genética entre Populações	Estrutura Genética dentro de Populações
Monóicas	Aumentando o cruzamento e o fluxo de pólen reduz a diferenciação	Depende do sistema de cruzamento e polinizador; provavelmente tenha subdivisão reduzida e homogeneidade aumentada
Dióicas	Forçando o cruzamento e fluxo de pólen reduz a diferenciação	Forçando o cruzamento reduz a subdivisão; contudo, o cruzamento agrupado e proporção desigual dos sexos podem reduzir o N_e e gerar diferenciação
Modo de Reprodução		
Apomixia obrigatória	Efeito fundador e deriva promovem divergência; a perda da variabilidade genotípica é aumentada pela falta de recombinação	Clones homogêneos; população altamente subdividida ou monomórficas, dependendo do número de genes
Apomixia facultativa	Efeito fundador pode limitar o número de genes e deste modo aumentar a diferenciação	Potencialmente subdividida; depende do sistema de cruzamento e da quantidade de reprodução sexual
Reprodução sexual	Depende de outros fatores	Depende de outros fatores
Mecanismo de Polinização		
Abelhas pequenas	Movimento de pólen limitado, especialmente por insetos pequenos, aumenta a diferenciação	Limitado, leptokurtic, ou o movimento do pólen vizinho reduz o N_e , promovendo subdivisão, estrutura familiar e endogamia.
entomofilia em geral		
abelhas grandes	dispersão de pólen raro a longa-distância,	Animais vetores com alta divergência no
borboletas/mariposas	apanhar em armadilha à longa-distância, ou	transporte e entrega do pólen aumentará o
pássaros/morcegos	baixo conhecimento dos níveis de pólen (vento) previne diferenciação	N_e Grandes vetores visitarão mais plantas, reduz a subdivisão, mostra N_e moderado a grande, e N_a grande
Vento		Polinização pelo vento mostra N_e e N_a grandes: reduz a subdivisão
Dispersão de Sementes		
Gravidade	Dispersão limitada promove diferenciação	Movimento de sementes limitadas reduz N_e , promove estrutura familiar, endogamia, aumenta a homozigiosidade, e subdivisão
Explosiva/Capsula	Quantidades pequenas de migração a longa	Grande divergência na distância de
Alado/Plumosa	distância pode prevenir a divergência	dispersão aumenta o N_e , diminui a
(vento)		subdivisão
Animal-ingestão	Transporte regular a longa distância promove	Dispersão pelo vento e animais pode
Animal-atacado	homogeneidade	reduzir a estrutura familiar

continuação da Tabela 1

Fatores Ecológicos	Estrutura Genética entre Populações	Estrutura Genética dentro de Populações
<u>Dormência de Sementes</u>		
Ausente	Determinado por outros fatores	Determinado por outros fatores
Presente	Reduz a divergência; retarda a perda de alelos pela deriva e isolamento	Reduz a perda de alelos; aumenta a geração de genótipos no tempo, aumenta o N_e , e inibe a subdivisão
<u>Fenologia</u>		
Populações asincrônicas	Prever troca de genes, promove subdivisão	Restringe o cruzamento, reduz o N_e , e promove subdivisão
Populações periódicas e sincrônicas	Potencial de fluxo gênico extenso reduz a probabilidade de divergência	Potencial grande do N_e ; pode ser reduzido pela ação do polinizador ou estrutura da família, mas pontencialmente homogêneas
Prolongada, baixo nível de florescimento	Movimento do polinizador a longa distância prever divergência	Reduz a autofecundação, aumenta o fluxo de pólen, aumenta o N_e , e prever subdivisão
<u>Ciclo de Vida</u>		
Anual	Aumenta a oportunidade de subdivisão	Aumenta a susceptibilidade a deriva devido ao efeito de gargalo e a fecundidade variável; diminui o N_e , promove subdivisão local
Vida-curta		
Vida-longa	Reduz os efeitos de deriva, aumenta a oportunidade de migração e deste modo retarda a divergência	Retarda a perda de variação; aumenta o N_e , aumenta a oportunidade de cruzamento, e retarda a subdivisão
<u>Período reprodutivo</u>		
Monocárpico	Promove deriva e divergência entre populações	Possibilidade de cruzamento restrito, encurta o tempo efetivo da geração; reduz o N_e , que promove diferenciação no tempo e espaço mas reduz a densidade de florescimento, que pode aumentar o N_e
Policárpico	Pode inibir a divergência: depende de outros fatores	Aumenta o N_e aumentando o "pool" de cruzamento e a geração no tempo, reduzindo a possibilidade de subdivisão
<u>Estágio Sucessional</u>		
Inicial	Efeito de deriva e fundador, encurta a longevidade da população, promove diferenciação	Depende de outros fatores; geração no tempo, sistema de cruzamento e dispersão podem ter efeitos conflitantes sobre o N_e
Tardio	Estável, estrutura de populações de vida-longa promove migração, reduz a deriva, e reduz a diferenciação	Depende de outros fatores; gerações longas reduzirão a subdivisão da população
<u>Área Geográfica</u>		
Endêmica	Pequena, populações locais mostrarão mais divergência devido a deriva e isolamento	Possivelmente homogêneas, devido ao tamanho das flutuações, falta de variabilidade
Estreita		

continuação da Tabela 1

Fatores Ecológicos	Estrutura Genética entre Populações	Estrutura Genética dentro de Populações
Regional	Padrões de espécies mais difundidas determinados por outros fatores	Padrões influenciados por outros fatores
Difundidas (muito espalhadas)		
Tamanho da População		
Grande e estável	Trocas nas populações de todos os tamanhos entre os efeitos de deriva e migração;	Potencialmente subdividida, dependendo da ação do polinizador
Pequena e estável	populações pequenas promove divergência devido a deriva, mas são influenciados mais por pequenos números de propágulos migrantes	Provavelmente mais homogênea, dependendo da escala de fluxo gênico e da magnitude de deriva
Tamanho flutuante	A estrutura dependerá da quantidade de migração	Homogêneas, devido a perda da variabilidade e endogamia durante os períodos de tamanho pequeno; o peso do N_e é influenciado em direção ao tempo gasto para o tamanho de populações pequenas
Densidade da População		
Alta	Trocas análogas daquelas do tamanho de populações	Movimento de pólen dispersado por animal é mais susceptível a densidade; densidade alta limita o fluxo de pólen e aumenta a subdivisão
Baixa	Baixa densidade pode promover fluxo de pólen a longa distância, aumentando a homogeneidade	Baixa densidade pode aumentar o movimento do pólen (aumenta N_a) ou pode reduzir a visita do polinizador (diminui o N_a e N_e) Polinização pelo vento, reduzindo a densidade diminuirá o N_e mas não o N_a , induzindo a subdivisão
Distribuição espacial da população		
Irregular	Aumentando o isolamento reduz o fluxo gênico e aumenta a diferenciação	Irregularidade pode afetar a ação do polinizador em métodos complexos; em geral irregularidade espacial aumenta a endogamia, reduz o fluxo gênico e o N_e , e aumenta a irregularidade genética e subdivisão
Uniforme	Promove migração e homogeneidade	Promove fluxo gênico e reduz a subdivisão
População Modelo	Aumenta a divergência em séries linear de populações	A subdivisão é aumentada em habitats linear

N_e = tamanho efetivo da população; N_a = área vizinhança

Anexo III.1

Tabela 14. $\hat{F}_{ST}$ e qui-quadrado (χ^2) para as diferenças das frequências alélicas do pólen e dos óvulos (P/O), dos óvulos e das árvores adultas (O/A), e do pólen e das árvores adultas (P/A), em uma população natural de *M. urundeuva* localizada na E.E.S/RN. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	P/O		O/A		P/A	
	$\hat{F}_{ST}$	χ^2	$\hat{F}_{ST}$	χ^2	$\hat{F}_{ST}$	χ^2
Pgm-1	0,0035	0,48 ^{ns}	0,0000	0,00 ^{ns}	0,0035	0,48 ^{ns}
Pgi-1	0,0070	0,95 ^{ns}	0,0000	0,00 ^{ns}	0,0070	0,95 ^{ns}
Pgi-2	0,0251	3,44 ^{ns}	0,0000	0,00 ^{ns}	0,0251	3,44 ^{ns}
6-Pgdh-1	0,0070	0,97 ^{ns}				
Est-1	0,2060	25,75 ^{**}	0,0188	2,35 ^{ns}	0,0474	5,93 ^{ns}
Lap-1	0,0035	0,48 ^{ns}				
Lap-2	0,0040	0,47 ^{ns}				

^{ns} - não significativo; ^{**} - 99% de probabilidade

Anexo III.2

Tabela 15. $\hat{F}_{ST}$ e qui-quadrado (χ^2) para as diferenças das frequências alélicas do pólen e dos óvulos (P/O), dos óvulos e das árvores adultas (O/A), e do pólen e das árvores adultas (P/A), em uma população natural de *M. urundeuva* localizada no S.M.A/PB. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Loco	P/O		O/A		P/A	
	$\hat{F}_{ST}$	χ^2	$\hat{F}_{ST}$	χ^2	$\hat{F}_{ST}$	χ^2
Pgm-1	0,0128	2,54 ^{ns}	0,0007	0,13 ^{ns}	0,0182	3,60 ^{ns}
Pgi-1	0,0241	5,01 ^{ns}	0,0000	0,00 ^{ns}	0,0241	5,01 ^{ns}
6-Pgdh-1	0,0137	3,08 ^{ns}				
Lap-1	0,0030	0,64 ^{ns}				
Lap-2	0,0091	1,83 ^{ns}				

ns - não significativo

Anexo IV.1 (continuação)

10	11	11	00	11	11	11	11	12
11	00	00	00	11	11	11	11	13
12	00	11	11	11	11	11	11	00
13	12	11	11	11	11	11	11	11
14	00	00	00	11	11	11	11	12
15	00	00	11	11	11	11	11	12
16	00	11	11	11	11	11	11	00
17	11	11	11	11	11	11	11	11
18	11	11	11	11	11	11	11	12
19	11	11	00	11	11	11	11	12
20	11	12	11	11	11	11	11	12
21	11	11	11	11	11	11	11	22
22	11	11	00	11	11	11	11	11
23	11	11	11	11	11	11	11	11
24	11	11	11	11	11	11	11	22
25	00	11	11	11	11	11	11	11
26	11	11	11	11	11	11	11	11
27	11	11	11	11	11	11	11	12
28	11	11	11	11	11	11	11	12
29	11	11	11	11	11	11	11	11
30	11	11	00	11	11	11	11	11

Anexo IV.2: Frequências genóticas de doze locos isoenzimáticos em duas populações naturais (E.E.S. e S.M.A.) das famílias de *M. urundeuva* Freire, F. & M. F. Allemão. Piracicaba, ESALQ/USP, 1997.

Pgm1 Pgi1 Pgi2 Mdh1 Mdh2 Mdh3 6Pgd Est1 Lap1 Lap2 Got1 Got2

E.E.S

01	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	00	11
02	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	11	11
03	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	12	11	00	11	11
04	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	11	11
05	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	12	11	00	11	11
06	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	11	11
07	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11
08	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	11	11
09	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	00	11
10	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11
11	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11
12	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	00	11
13	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11
14	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11
15	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11
16	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	00	11
17	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11
18	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	11	11

Anexo IV.2 (continuação)

19	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	00	00	11
20	FAM14	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	00	11	11
21	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11	11
22	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
23	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	33	11	11	11	11
24	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
25	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
26	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
27	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11
28	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11	11
29	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11	11
30	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
31	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11
32	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
33	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
34	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
35	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
36	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
37	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
38	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
39	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	00	11
40	FAM24	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11	11
41	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
42	FAM28	11	12	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
43	FAM28	11	00	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11
44	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
45	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11
46	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11
47	FAM28	11	00	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11	11
48	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11
49	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11
50	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
51	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
52	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11
53	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11
54	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11
55	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11
56	FAM28	11												

Anexo IV.2 (continuação)

68	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
69	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
70	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
71	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
72	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
73	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
74	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
75	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
76	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
77	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
78	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
79	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
80	FAM27	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
81	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
82	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
83	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
84	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	12	11	11	11
85	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11
86	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	12	11	11	11
87	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11
88	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
89	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
90	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
91	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
92	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
93	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
94	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
95	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
96	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
97	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
98	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
99	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	12	11	11	11
100	FAM02	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
101	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
102	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
103	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
104	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
105	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
106	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	12	11	11	11
107	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
108	FAM12	12	11	11	11	11	11	11	11	12	12	11	11	11	11
109	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
110	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
111	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
112	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
113	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
114	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
115	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
116	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11

Anexo IV.2 (continuação)

117 FAM12 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 118 FAM12 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 119 FAM12 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 120 FAM12 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 121 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 122 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 123 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 124 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 125 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 126 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 127 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 128 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 129 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 130 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 131 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 132 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 133 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 134 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 135 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 136 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 137 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 138 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 139 FAM18 11 11 12 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 140 FAM18 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 141 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 142 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 143 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 144 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 145 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 146 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 147 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 148 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 149 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 150 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 151 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 152 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 153 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11
 154 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 155 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 156 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 157 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11
 158 FAM17 11 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 159 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 160 FAM17 11 12 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11
 161 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 162 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 163 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 164 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 165 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

166 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 167 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 168 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 169 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 170 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 00 00 11 11
 171 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 172 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 173 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 174 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 175 FAM16 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 176 FAM16 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 177 FAM16 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 178 FAM16 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 179 FAM16 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 180 FAM16 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 181 FAM20 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 182 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 183 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 184 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 185 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 186 FAM20 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 187 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 188 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 189 FAM20 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 190 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 191 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 192 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 193 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 194 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 11 11 00 00
 195 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 196 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 197 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 198 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 199 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 200 FAM20 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 201 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 202 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 203 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 204 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 205 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 206 FAM29 11 11 11 00 11 11 11 11 00 11 11 11 11
 207 FAM29 11 11 11 00 11 11 11 12 11 11 11 11 11
 208 FAM29 11 11 11 00 00 00 11 00 00 00 00 11 11
 209 FAM29 11 11 11 00 11 11 11 12 11 11 00 11 11
 210 FAM29 11 11 11 00 11 11 11 00 00 00 00 11 11
 211 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 212 FAM29 11 11 11 11 00 00 11 11 11 11 11 11 11
 213 FAM29 11 11 11 11 00 00 11 11 00 11 11 11 11
 214 FAM29 11 11 11 11 00 00 11 12 11 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

215 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 216 FAM29 11 12 11 11 00 00 11 11 11 11 11 11
 217 FAM29 11 11 11 11 00 00 11 11 11 11 11 11
 218 FAM29 11 11 11 11 00 00 11 11 11 11 11 11
 219 FAM29 11 11 11 00 00 00 11 00 11 11 11 11
 220 FAM29 11 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 221 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 222 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 223 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 224 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 225 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 226 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 227 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 228 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 229 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 230 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11
 231 FAM06 11 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 232 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 233 FAM06 11 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 234 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 235 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 236 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 237 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 238 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 239 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 240 FAM06 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 241 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 242 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 243 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 244 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 245 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 246 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 247 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 248 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 249 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 250 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 251 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 252 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 253 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 254 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 255 FAM25 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 256 FAM25 11 12 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 257 FAM25 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 258 FAM25 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 259 FAM25 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 260 FAM25 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 261 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 262 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 263 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

264 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 265 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 266 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 267 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 268 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 269 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 270 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 271 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 272 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 273 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 274 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 275 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 276 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 277 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 278 FAM01 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 279 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 280 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11

S.M.A.

01 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 02 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 03 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 04 FAM20 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
 05 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 06 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 07 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 08 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 09 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 10 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 11 FAM20 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11
 12 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 00 11
 13 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 00 11
 14 FAM20 11 11 11 11 11 11 12 12 11 11 11 11
 15 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11
 16 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 17 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11
 18 FAM20 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
 19 FAM20 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
 20 FAM20 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 00 11
 21 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11
 22 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 23 FAM01 00 00 11 11 11 11 11 11 00 00 00 11
 24 FAM01 00 11 11 00 11 11 11 12 11 11 11 11
 25 FAM01 12 11 11 00 11 11 11 12 11 11 00 11
 26 FAM01 12 11 11 00 11 11 11 12 11 11 00 11
 27 FAM01 22 11 11 00 11 11 11 22 00 11 00 11
 28 FAM01 00 11 11 00 11 11 00 12 00 11 00 00
 29 FAM01 11 00 11 00 11 11 11 12 00 11 00 11
 30 FAM01 00 00 11 00 11 11 11 12 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

31 FAM01 12 11 11 00 11 11 11 12 11 11 11 11
 32 FAM01 12 11 11 00 11 11 11 22 11 11 00 11
 33 FAM01 00 11 11 00 11 11 11 11 11 11 11 11
 34 FAM01 00 00 11 00 11 11 11 11 11 11 11 11
 35 FAM01 11 11 11 00 11 11 11 11 11 11 11 11
 36 FAM01 11 11 11 00 11 11 11 12 00 00 11 00
 37 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 12 00 11 00 00
 38 FAM01 12 11 11 11 11 11 11 22 00 11 11 11
 39 FAM01 00 11 11 11 11 11 11 11 00 00 00 00
 40 FAM01 11 11 11 11 11 11 11 11 00 00 00 00
 41 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 42 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 43 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 44 FAM26 11 11 11 11 11 11 00 11 11 11 11 11
 45 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 46 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 47 FAM26 11 00 11 11 11 11 00 12 11 11 11 11
 48 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 49 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 50 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 51 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 52 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 54 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 55 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 56 FAM26 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 57 FAM26 11 11 11 11 11 11 12 13 11 11 11 11
 58 FAM26 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
 59 FAM26 11 11 11 11 11 11 12 13 11 11 11 11
 60 FAM26 11 11 11 11 11 11 12 12 11 11 11 11
 62 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 63 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 64 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 65 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 66 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 67 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 68 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 69 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 70 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 71 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 72 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 73 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 74 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 75 FAM22 00 00 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 76 FAM22 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 77 FAM22 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 78 FAM22 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 79 FAM22 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 80 FAM22 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 81 FAM21 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

131	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
132	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
133	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
134	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
135	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
136	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
137	FAM28	11	12	11	11	11	11	11	22	11	11	11	11	11
138	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
139	FAM28	11	12	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
140	FAM28	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
141	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
142	FAM17	11	12	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
143	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
144	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
145	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
146	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
147	FAM17	11	12	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
148	FAM17	11	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
149	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
150	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
151	FAM17	11	12	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
152	FAM17	11	13	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
153	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
154	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
155	FAM17	11	12	11	11	11	11	11	13	11	11	11	11	11
156	FAM17	11	13	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
157	FAM17	11	11	11	11	11	11	11	12	11	11	11	11	11
158	FAM17	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
159	FAM17	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
160	FAM17	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
161	FAM12	11	11	11	12	11	11	11	11	11	00	11	11	11
162	FAM12	11	11	11	12	11	11	11	11	11	00	11	11	11
163	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
164	FAM12	11	11	11	12	11	11	11	12	12	00	11	11	11
165	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
166	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
167	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
168	FAM12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	00	11	11	11
169	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	12	11	00	11	11	11
170	FAM12	11	12	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
171	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	13	11	00	11	11	11
172	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
173	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	12	11	00	11	11	11
174	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
175	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
176	FAM12	11	11	11	33	11	11	11	12	11	00	11	11	11
177	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	11	11	00	11	11	11
178	FAM12	11	11	11	22	11	11	11	13	11	00	11	11	11
179	FAM12	11	11	11	33	11	11	11	11	00	00	11	11	11

Anexo IV.2 (continuação)

180 FAM12 11 11 11 33 11 11 11 12 00 00 11 11
 181 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 182 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 183 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 184 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 185 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 186 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 187 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 188 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 189 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 190 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 191 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 192 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 193 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 194 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 195 FAM30 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 196 FAM30 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 197 FAM30 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 198 FAM30 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 199 FAM30 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 200 FAM30 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 201 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 202 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 203 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 204 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 205 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 206 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 207 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 208 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 209 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 210 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 211 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 212 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 213 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 214 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 215 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 216 FAM03 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 217 FAM03 11 11 11 00 00 00 11 22 11 11 11 11
 218 FAM03 11 11 11 00 00 00 11 12 11 11 11 11
 219 FAM03 11 11 11 00 00 00 11 23 11 11 11 11
 220 FAM03 11 11 11 00 00 00 11 12 11 11 11 11
 221 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 11 11 11 11 11
 222 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 223 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 224 FAM07 00 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 225 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 226 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 13 11 11 11 11
 227 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 228 FAM07 11 11 11 12 11 11 11 12 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

229 FAM07 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 230 FAM07 00 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 231 FAM07 00 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 232 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 22 11 11 11 11
 233 FAM07 11 11 11 12 11 11 12 12 11 11 11 11
 234 FAM07 12 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 235 FAM07 00 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 236 FAM07 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
 237 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 238 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 239 FAM07 00 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 240 FAM07 11 11 11 22 11 11 11 12 11 11 11 11
 241 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 13 11 11 11 11
 242 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 243 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 244 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 245 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 246 FAM29 11 11 11 00 11 11 11 11 11 11 11 11
 247 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 248 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 23 11 11 11 11
 249 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 250 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 251 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 252 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 253 FAM29 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 254 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 255 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 256 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 22 11 11 11 11
 257 FAM29 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 258 FAM29 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 259 FAM29 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 260 FAM29 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00 00
 261 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 262 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 263 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 264 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 265 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 12 11 11
 266 FAM11 00 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 267 FAM11 00 11 11 11 11 11 11 12 11 12 11 11
 268 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 12 11 11
 269 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 270 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 271 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 272 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 273 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 274 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
 275 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 276 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11
 277 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11

Anexo IV.2 (continuação)

278 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
279 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
280 FAM11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11