



**DISTRIBUIÇÃO DA VARIAÇÃO GENÉTICA
DE *Cedrela fissilis* Vell., EM FRAGMENTOS
FLORESTAIS, NO SUL DE MINAS GERAIS,
POR MEIO DE ISOENZIMAS**

JOEMA SOUZA RODRIGUES PÓVOA

2002

JOEMA SOUZA RODRIGUES PÓVOA

DISTRIBUIÇÃO DA VARIAÇÃO GENÉTICA DE
Cedrela fissilis Vell., EM FRAGMENTOS FLORESTAIS,
NO SUL DE MINAS GERAIS, POR MEIO DE
ISOENZIMAS



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

Orientadora

Profa. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2002

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

Póvoa, Joema Souza Rodrigues

Distribuição da variação genética de *Cedrella fissilis* Vell., em fragmentos florestais, no sul de Minas Gerais, por meio de isoenzimas / Joema Souza Rodrigues Póvoa. – Lavras : UFLA, 2002.

95 p. : il.

Orientadora: Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia

1. Estrutura genética. 2. Isoenzima. 3. *Cedrella fissilis*. 4. Autocorrelação espacial de genótipos. 5. Tamanho efetivo populacional. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.9756

JOEMA SOUZA RODRIGUES PÓVOA

**DISTRIBUIÇÃO DA VARIAÇÃO GENÉTICA DE *Cedrela fissilis* Vell.,
EM FRAGMENTOS FLORESTAIS, NO SUL DE MINAS GERAIS, POR
MEIO DE ISOENZIMAS**

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

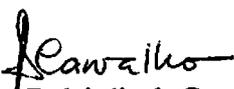
APROVADA em 27 de fevereiro de 2002

Ana Yamaguishi Ciampi

EMBRAPA/CERNAGEN

Eduardo Bearzoti

UFLA


Profa. Dulcinéia de Carvalho

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

**Ao meu companheiro, Lucas Guida e à minha família,
pelo amor e apoio,**

OFEREÇO

Aos filhos que um dia terei,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, em especial:

À Professora Dulcinéia de Carvalho, pela orientação, amizade e carinho a mim dedicado.

Ao meu namorado Lucas Guida, pela inestimável ajuda durante todo o trabalho e à sua família, pelo apoio e carinho.

Ao meu irmão Flávio, pela “bolsa de estudos”.

Aos colegas do Laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular, Karem, Batman, Anderson, Maria Carolina, Regiane, Sheila, Alexandre “Calouro”, Vássia, Izaías, Floriana, Fernanda e, em especial, à Márcia e Afrânio.

A TODOS os colegas pós-graduandos do DCF, em especial ao Warley, Yule, Cabacinha e Edmilson.

Ao Zé Carlos, Alvinho, Magá e Rossano, pela ajuda na coleta do material.

Aos professores José Aldo e Rosângela Borém, e ao graduando Evandro, pelo fornecimento dos dados relativos à mata da Lagoa.

Ao PROBIO, pelo apoio financeiro ao projeto “Estratégias para conservação e manejo da biodiversidade em fragmentos de florestas semidecíduas”.

À CAPE,S pela concessão da bolsa.

Ao Alexandre Magno Sebben (ESALQ-USP), pela ajuda com o programa Autocorr.

3.2.3.1.1 Estimativas das frequências alélicas	34
3.2.3.1.2 Estimativa dos índices de diversidade genética	34
3.2.3.2 Caracterização da estrutura genética das populações.....	35
3.2.3.2.1 Estatísticas F.....	35
3.2.3.2.2 Coeficiente de coancestralidade.....	36
3.2.3.3 Sistema reprodutivo	38
3.2.3.3.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	38
3.2.3.3.2 Taxa de cruzamento unilocos (\hat{t}_s) e multilocos (\hat{t}_m).....	39
3.2.3.4 Estimativa do fluxo gênico (\hat{N}_m).....	40
3.2.3.5 Estimativa do tamanho efetivo da população (\hat{N}_e).....	40
3.2.3.6 Distribuição espacial dos genótipos.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Levantamento das populações naturais de <i>Cedrela fissilis</i>	45
4.2 Sistemas enzimáticos	45
4.3 Caracterização da variação genética	49
4.3.1 Frequências alélicas	49
4.3.2 Índices de diversidade genética	53
4.4 Estrutura genética	58
4.5 Sistema reprodutivo.....	62
4.5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	62
4.5.2 Taxas de cruzamento	65
4.6 Fluxo gênico (\hat{N}_m).....	67
4.7 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)	69
4.8 Estrutura genética espacial.....	74
5. CONCLUSÕES.....	80

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Fragmentação das florestas tropicais e perda da biodiversidade.....	3
2.2 Raridade em espécies arbóreas.....	5
2.3 A espécie <i>Cedrela fissilis</i> Vell.	8
2.4 Eletroforese de isoenzimas.....	13
2.5 Variabilidade genética	14
2.6 Estrutura genética	15
2.7 Sistema reprodutivo.....	19
2.8 Fluxo gênico.....	20
2.9 Tamanho efetivo (N_e).....	22
2.10 Autocorrelação espacial de genótipos.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 MATERIAL	26
3.1.1 Locais de estudo	26
3.1.1.1 Mata do Galego	26
3.1.1.2 Mata do Capivari	28
3.1.1.3 Mata da Lagoa	29
3.1.2 Coleta de material.....	30
3.2 MÉTODOS	31
3.2.1 Análises eletroforéticas	31
3.2.2 Interpretação dos zimogramas	33
3.2.3 Análises estatísticas	33
3.2.3.1 Caracterização da variação genética	33

3.2.3.1.1 Estimativas das frequências alélicas	34
3.2.3.1.2 Estimativa dos índices de diversidade genética	34
3.2.3.2 Caracterização da estrutura genética das populações.....	35
3.2.3.2.1 Estatísticas F.....	35
3.2.3.2.2 Coeficiente de coancestralidade.....	36
3.2.3.3 Sistema reprodutivo	38
3.2.3.3.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)	38
3.2.3.3.2 Taxa de cruzamento unilocus (\hat{t}_s) e multilocus (\hat{t}_m)	39
3.2.3.4 Estimativa do fluxo gênico (\hat{N}_m).....	40
3.2.3.5 Estimativa do tamanho efetivo da população (\hat{N}_e).....	40
3.2.3.6 Distribuição espacial dos genótipos.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Levantamento das populações naturais de <i>Cedrela fissilis</i>	45
4.2 Sistemas enzimáticos	45
4.3 Caracterização da variação genética	49
4.3.1 Frequências alélicas	49
4.3.2 Índices de diversidade genética	53
4.4 Estrutura genética	58
4.5 Sistema reprodutivo.....	62
4.5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).....	62
4.5.2 Taxas de cruzamento	65
4.6 Fluxo gênico (\hat{N}_m).....	67
4.7 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)	69
4.8 Estrutura genética espacial.....	74
5. CONCLUSÕES.....	80

RESUMO

PÓVOA, Joema Souza Rodrigues. Distribuição da variação genética de *Cedrela fissilis* Vell, em fragmentos florestais, no sul de Minas Gerais, por meio de isoenzimas. LAVRAS: UFLA, 2002. 95p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)*

Três populações naturais de *Cedrela fissilis* Vell., espécie arbórea rara de ampla distribuição, foram estudadas por meio da eletroforese de isoenzimas, o objetivo foi determinar os níveis de variabilidade mantidos dentro e entre as populações, o fluxo gênico, o sistema reprodutivo, a distribuição espacial dos genótipos e o tamanho efetivo das populações. Duas das populações amostradas se encontram no município de Lavras (matas do Capivari e Lagoa), e a terceira no município de Luminárias (mata do Galego), ambas no sul de Minas Gerais. Foram amostrados 47, 14 e 5 indivíduos adultos e 7, 2 e 2 famílias das matas do Galego, Capivari e Lagoa, respectivamente. Foram testados 21 sistemas enzimáticos dos quais 3 foram revelados nos adultos e 5 nas progênes, perfazendo um total de 13 locos e 37 alelos. O polimorfismo médio (P) foi igual a 48,72% nos adultos e 76,92% na progênie, sendo limite de frequência igual ou superior a 0,99. O número médio de alelos por loco (A) foi igual a 2,43 e 2,36 e a heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) foi igual a 0,380 e 0,330 nos adultos e progênes, respectivamente. A análise da distribuição da variabilidade genética revelou não haver endogamia para o conjunto dos adultos e das famílias ($\hat{F} = -0,090$ e $-0,213$), tendência a um aumento na endogamia das progênes para os adultos ($\hat{f} = -0,126$ e $-0,340$) e baixa divergência genética entre as populações ($\hat{\theta}_p = 0,030$) e entre as progênes ($\hat{\theta}_f = 0,013$). A taxa média de cruzamento multilocos das populações foi alta ($\hat{i}_m = 0,99$), indicando que a espécie é de reprodução mista predominantemente alógama. O fluxo gênico medido pelo número de migrantes (\hat{N}_m) foi alto, 2,33 em média. Os tamanhos efetivos estimados para as populações (\hat{N}_e) a partir dos adultos foram ligeiramente superiores aos tamanhos reais (N), sendo variável a representatividade genética das matrizes nas populações (39,72%, 65,27% e 89,71%). A área mínima estimada para conservação da espécie *in situ* foi de 260 ha, para N_e igual a 50. Os genótipos dos adultos da mata do Galego não apresentaram estruturação espacial.

* Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Eduardo Bearzoti - UFLA.

ABSTRACT

PÓVOA, Joema Souza Rodrigues. Distribution of genetic variability in natural populations of *Cedrela fissilis* Vell., in forest fragments in south Minas Gerais, by isozymes. LAVRAS: UFLA, 2002. 95p. (Dissertation - Master Program in Forest Engineering)*

Three natural populations of *Cedrela fissilis* Vell., rare arboreal species of wide distribution, were investigated by isozyme electrophoresis, aiming to determine the variability levels maintained in the populations, the gene flow, the reproductive system, the spatial distribution of the genotypes and the population effective size. Two populations are sampled in the region of Lavras (Capivari and Lagoa), and the third in the region of Luminárias (Galego), in the south of Minas Gerais. Samples of leaf tissue were taken from 47, 14 and 5 adult individuals and from 7, 2 and 2 families of the Galego, Capivari and Lagoa, respectively. Three enzymatic systems were evaluated in adults and five in progenies (37 total alleles). The polymorphism (P) it was to 48,72% in the adults and 87,18% in the progenies. The average number of alleles per locus was 2,43 to 2,36 and the expected heterozygosity (\hat{H}_e) was 0,380 to 0,330 in the adults and progenies, respectively. The estimated data don't revealed inbreeding for the adult populations ($\hat{F} = -0,090$) and for the progenies ($\hat{F} = -0,213$). The average multilocus outcrossing rate was 0,99, indicating that the species is predominantly allogamous. The gene flow evaluated by the number of migrants (\hat{N}_m) was 2,33. The minimum area size estimated for the *in situ* conservation was 260 ha. The adults of the Galego didn't present spatial structuring.

* Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Eduardo Bearzoti - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A fragmentação florestal é assunto atual e vem sendo bastante discutida e estudada, principalmente no que diz respeito a seus efeitos negativos sobre a biodiversidade. A fragmentação implica na redução de área, levando a efeitos de borda, destruição de habitats e fragmentação de populações naturais, com conseqüente perda e extinção de espécies. Além disso, impede a migração, restringe o tamanho efetivo populacional (Turner, 1996; Alvarez-Buylla *et al.*, 1996; Laurance *et al.*, 1997), propicia a reprodução entre indivíduos aparentados, ou entre menor número de indivíduos e colonização de espécies exóticas (Ellstrand e Elam, 1993).

A deriva genética e endogamia resultam na diminuição do tamanho efetivo populacional, tendo como conseqüência a perda da variabilidade genética e a redução da heterozigosidade, respectivamente. A perda de variabilidade genética resulta na redução da habilidade das populações de se adaptarem a mudanças ambientais (*fitness*), levando muitas espécies a atingirem uma limitação evolutiva (Barret e Kohn, 1991; Heldrick e Miller, 1992; Ellstrand e Elam, 1993; Frankhan, 1995).

Para a elaboração de estratégias para conservação, ou mesmo restauração da vegetação, são necessários trabalhos em fitossociologia, dinâmica e fundamentalmente, estudos genéticos. Tais estudos devem avaliar a diversidade e estrutura populacional para que possam inferir sobre o sistema reprodutivo e número efetivo populacional. A falta de algum destes conhecimentos pode acarretar em uma escolha inadequada de áreas para reserva, comprometendo a conservação de muitas espécies (Oliveira, 2000).

A escolha de uma espécie arbórea para definição de parâmetros com o objetivo de estabelecer reservas para conservação genética constitui-se ainda um

problema. Neste caso, têm sido indicadas espécies ditas raras, isto é, espécies cujos indivíduos ocorrem naturalmente em baixa densidade, pelo fato de necessitarem de grandes áreas para sua conservação, o que propicia a conservação de espécies que ocorrem em maior densidade.

Em face dessa problemática, alguns projetos vêm sendo implantados com o objetivo de estabelecer estratégias para conservação e/ou restauração por meio de estudos interdisciplinares. Como exemplo, cita-se o Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) executado pelo INPA. Neste sentido, foi elaborado o projeto “Estratégias para conservação e manejo da biodiversidade em fragmentos de florestas semidecíduas – PROBIO”, executado pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia (CERNAGEM), Universidade de Brasília (UnB) e Universidade Federal de Lavras (UFLA). A presente dissertação faz parte deste projeto executado pela Universidade Federal de Lavras.

Assim, neste trabalho, três populações naturais de *Cedrela fissilis* Vell., uma espécie rara, foram estudadas em sua estrutura genética. Isto é, elas foram estudadas quanto à distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações, a partir da eletroforese de isoenzimas em fragmentos florestais de floresta semidecídua de diferentes tamanhos e estados de conservação no sul de Minas Gerais.

Os objetivos foram: i) quantificar os níveis de diversidade genética dentro e entre populações naturais desta espécie; ii) inferir sobre o sistema reprodutivo e obter as estimativas das taxas de cruzamento nas diferentes populações; iii) calcular o número efetivo para cada população e iv) analisar a estrutura genética espacial de uma população.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fragmentação das florestas tropicais e perda da biodiversidade

Florestas fragmentadas são o resultado de mudanças rápidas e em grande escala na extensão e integridade de ecossistemas florestais que, apesar da semelhança física, provavelmente apresentam limitações funcionais em relação à original. Segundo Young e Boyle (2000), a mudança na composição de espécies das comunidades florestais é reflexo primeiramente da fragmentação, devido à mudanças de microclima e distúrbios. Porém, também representa respostas genéticas em grande escala. Os mesmos autores apontam três efeitos principais da fragmentação sobre as espécies: redução do número total de indivíduos, redução do tamanho populacional médio por restringir indivíduos em pequenos fragmentos e isolamento espacial de populações remanescentes dentro de uma matriz.

A Mata Atlântica, ecossistema com um dos maiores níveis de biodiversidade do mundo e que originalmente ocupava uma área de 108.500.000 ha, abrangendo 16 estados brasileiros, apresenta hoje somente 8,8% de sua área original (9.564.100 ha). Devido à expansão agrícola, que resultou na perda de mais de 95% da floresta (DEPRN, 1991; SOS Mata Atlântica e INPE, 1993), os remanescentes florestais estão localizados sobre os topos de morro e encostas.

Em Minas Gerais, estudos de reconstituição florestal indicam que o estado possuía, originalmente, 45% do seu território coberto por florestas, 10 % por campos e caatinga e outra parte por cerrados (Carvalho, 1996). Já em 1982, em inventário feito pelo Cetec/IBDF, a área ocupada por floresta era de 34% de remanescentes, sendo 16,4% capoeiras (vegetação secundária). Somente no período de 1990 a 1995, segundo a Fundação SOS Mata Atlântica, INPE e

Instituto Socioambiental (1998), foi verificado desmatamento de cerca de 89.000ha. Atualmente no estado, somente 4% da cobertura vegetal original de Mata Atlântica são encontrados.

Alguns trabalhos têm sido feitos em Minas Gerais levantando-se a composição florística de fragmentos e diversidade de espécies nos vários tipos vegetacionais. Nos remanescentes de Floresta Estacional Semidecidual do sul do estado, local de estudo, têm sido encontrados altos índices de diversidade, em torno de 0,4 (índice de diversidade de Shannon). O número de espécies por ha encontrado têm variado de 112 (Souza, 2001) a 167 espécies/ha (Van den Berg, 1995).

Apesar da alta diversidade encontrada nos trabalhos de descrição florística e fitossociológicos, a diversidade é avaliada somente no que diz respeito ao número de espécies, não sendo possível fazer inferências sobre as “condições” em que se encontram as espécies. Isto porque faltam dados a respeito de isolamento, mudanças no tamanho populacional e redução da cobertura vegetal, que afetam a manutenção de níveis de diversidade genética mantidos dentro de espécies por interferir em processos genéticos, como cruzamento, fluxo gênico e seleção (Bilington, 1991; Ledig, 1992; Young, Boyle e Brown, 1996). Estes processos determinam a distribuição da diversidade genética entre indivíduos e populações em uma escala geográfica e dentro de uma espécie (Young e Boyle, 2000).

Segundo Young e Boyle (2000), os efeitos genéticos da fragmentação florestal são: perda de diversidade genética por populações e espécies, mudança na estrutura interpopulacional e aumento da endogamia.

O conhecimento da distribuição da variabilidade genética, isto é, como esta distribuição é particionada entre e dentro de populações, bem como a dinâmica e biologia reprodutiva da espécie, é de fundamental importância para a elaboração de estratégias de conservação ou mesmo restauração de fragmentos.

Como alertado por Brune (1975), grande parte da diversidade genética pode ter sido perdida sem mesmo ter sido estudada, o que mostra a urgência de mais estudos genéticos das espécies.

2.2 Raridade em espécies arbóreas

A alta diversidade de espécies arbóreas encontrada nos trópicos é explicada pela raridade de muitas dessas espécies, que permite a coexistência de um grande número de indivíduos de diferentes espécies em um mesmo local (Kageyama e Gandara, 1994).

O termo 'raridade' muitas vezes é confundido com ameaça de extinção. É o que ocorre no "Red Data Book" da FAO, em que o termo designa espécies que estão em risco ou que habitem áreas geográficas/habitats restritos, ou ainda indivíduos escassamente dispersos sobre uma ampla extensão. Nota-se que o termo está relacionado a duas diferentes causas, endemismo e distribuição (dispersão) dos indivíduos. Como já discutido por Lepsch-Cunha (1996), endemismo é reflexo dos padrões geográficos naturais de distribuição da espécie e dispersão está relacionada com padrões naturais de densidade populacional.

Devido à dificuldade na utilização da expressão 'espécie rara', Rabinowitz *et al.* (1986) propuseram 7 tipos de raridade, de acordo com a combinação dos fatores extensão geográfica, ampla ou endêmica; especificidade de habitat, generalista ou restrita e tamanho populacional local, grande ou pequeno. As espécies ditas comuns apresentam ampla extensão geográfica, sem especificidade de habitat e grandes tamanhos populacionais.

Em virtude da dificuldade de se levantar dados a respeito destes três fatores para todas as espécies nas florestas tropicais, Hubbell e Foster (1986) inventariaram todos os indivíduos acima de 1 cm de DAP, em uma área de 50 ha em Barro Colorado. O objetivo foi o de determinar padrões de dispersão, demografia e requerimentos de regeneração de espécies raras. Para isso,

definiram espécies raras como sendo aquelas com densidade média igual ou menor do que um indivíduo por hectare. Esse parâmetro permitiu identificar que um terço das 303 espécies que encontraram encaixavam-se nesta categoria. Em estudos subseqüentes (1990), os autores puderam encontrar padrões de especificidade de habitat e nichos de regeneração para as espécies estudadas ditas raras.

Uma outra classificação de raridade foi apontada por Bawa e Ashton (1991). Nela, a raridade seria influenciada por três aspectos da distribuição espacial: extensão geográfica ampla ou restrita; extensão ecológica ampla ou restrita, e constância ou não de baixa densidade populacional ao longo da extensão geográfica. Da combinação destes foram obtidos quatro grupos em floresta tropical, quais sejam:

1. espécies uniformemente raras, isto é, que ocorrem tipicamente em populações de baixa densidade (menos de um indivíduo reprodutivo por ha);
2. espécies comuns em um local e raras entre os locais, sendo as áreas de maiores concentrações fontes de propágulo, e as áreas de menores densidades estando sujeitas a grandes flutuações;
3. espécies endêmicas, podendo o tamanho populacional ser grande ou pequeno;
4. espécies agrupadas, mas que apresentam densidade populacional total baixa.

É importante ressaltar que, segundo os mesmos autores, as espécies raras estão mais sujeitas à flutuações na densidade populacional do que as espécies abundantes. Portanto, decidiu-se analisar populações naturais livres de distúrbios antrópicos que possam alterar os padrões de densidade populacional.

O tipo de raridade discutido neste trabalho se refere ao tipo 1, em que a espécie é, naturalmente, uniformemente rara. As espécies deste tipo apresentam mecanismos de dispersão de semente e pólen a longa distância, sendo muitas

vezes polinizadas por morcegos e anemocóricas, apresentando, portanto, extenso fluxo gênico.

Estas características indicam que as espécies raras estariam pouco sujeitas à perda de diversidade genética dentro de populações, apresentando ainda considerável variação genética (Bawa e Ashton, 1991). Este fato já foi confirmado para algumas espécies arbóreas tropicais raras (O'Malley e Bawa, 1987; Buckley *et al.*, 1988; Hamrick e Loveless, 1989; Hamrick e Murawski, 1991). O extenso fluxo gênico também permitiria uma baixa diversidade genética entre populações, fato ainda pouco estudado em espécies arbóreas.

Em estudo recente, dirigido por Gitzendanner *et al.* (2000), foram estudadas espécies raras e comuns congêneres. Os autores concluíram não haver padrão de variação genética para espécies raras e comuns, já que ambas as categorias de espécies podem apresentar quaisquer níveis de diversidade genética.

Devido ao potencial de dispersão de pólen a grandes distâncias das espécies uniformemente raras, flutuações temporais na densidade populacional e na dispersão devem ter pouco ou nenhum efeito sobre o potencial reprodutivo de cada indivíduo (Bawa e Ashton, 1991).

A raridade de uma espécie é dita ser uma característica intrínseca à mesma, por estar ligada às suas características evolutivas, como sistema reprodutivo, tipo de polinização, dispersão de sementes e predação de sementes/plântulas (Gandara, 1996). Dessa forma, o estudo do comportamento de populações de espécies raras pode dar indicações importantes sobre esse segmento essencial da comunidade.

A adaptação à baixa densidade, segundo Kageyama (1990), faz com que as espécies se utilizem de mecanismos alternativos para garantir sua reprodução, permitindo uma maior autofecundação e autocompatibilidade, ocasionando em baixa polinização cruzada.

Com extenso fluxo gênico unindo indivíduos distantes, as espécies raras formam populações que ocupam grandes áreas. Portanto, uma redução na área ocupada por uma população acarretaria em aumento da endogamia devido à redução no número de indivíduos. Dessa forma, espécies raras se prestam como espécies indicadoras para definição de áreas de reserva genética por necessitar de grandes áreas para sua conservação, possibilitando a conservação de espécies que ocorram em maior densidade (Kageyama e Gandara, 1993).

2.3 A espécie *Cedrela fissilis* Vell.

Pertencendo à família das Meliáceas, a espécie *Cedrela fissilis* Vellozo é comumente conhecida pelos nomes de: cedro, cedro-rosa, cedro-batata, cedro-vermelho, cedro-branco, cedro-de-várzea, acaju-catinga, basálquina (chépaias), uencutanema (curuaés), iaporaissib e ihgarih (guaranis), cedro-blanco (Argentina, Uruguai), cedro colorado e cedro misionero (Argentina), cedro pinta e cedro paraguay (Paraguai).

A espécie apresenta árvores com 10 a 25 m de altura, chegando até a 40 metros, com 40 a 80 cm de DAP, podendo atingir 200 cm. Possui tronco mais ou menos cilíndrico, reto ou pouco tortuoso, com casca cinzenta, grossa, de espessura de 40 mm, profundamente sulcada. Quando em planta isolada apresenta copa densa, sendo mais cheia e corimbosa. Apresenta folhas compostas, com 25 a 45 cm de comprimento, com até 200 cm, sendo paripenadas, pecioladas, caducas, pubescentes. Os pecíolos são robustos, de 4 a 8 cm de comprimento, com 2,5 a 5,0 mm de diâmetro. Apresentam geralmente 8 a 13 pares de folíolos, chegando até 30 pares, sendo estes opostos, oblongo-lanceolados, curto-peciolados, pubescentes na face dorsal, com 6,5 a 18 cm de comprimento e 2 a 6 cm de largura; sua base é subarredondada, às vezes obtusa, com ápice acuminado ou agudo. As nervuras são salientes na face inferior e planas na face superior. As inflorescências apresentam-se reunidas em tirso

axilares, com de 30 cm de comprimento ou até mais, sendo pubescentes e terminais. Apresentam flores unissexuais por aborto, sendo as flores masculinas mais alongadas e mais estreitas que as femininas; apresenta cálice 5-dentado, campanulado, com dentes desiguais; a corola é amarelada, com ápice freqüentemente rosado-claro e imbrica com 5 pétalas pilosas, com ápice reflexo, livres, mais ligadas em parte ao ginóforo, num ponto entre as glândulas. O ginóforo apresenta 5 glândulas alongadas, alternadas com as pétalas; 5 estames, livres sobre a base do ovário e anteras oblongas e apiculadas, com o comprimento do filete. O ovário possui óvulos atrofiados. As flores femininas com ovário mais desenvolvido são ovóides, estando sobre o ápice do ginóforo, apresentando óvulos bisseriados ao longo da cavidade de cada lóculo, com estilete cilíndrico e estigma espesso e capitado. Os frutos são do tipo cápsula septigrafa, lenticelados, com 5 válvulas, de 3 a 10 cm de comprimento e 2 a 3 de diâmetro, de consistência lenhosa, cor castanho-escuro, apresentando deiscência do ápice para a base, com 30 a 100 sementes viáveis. A placentação é do tipo central. As sementes são longamente aladas, achatadas e de coloração castanho-claro, dispostas num eixo de paredes lisas e côncavas entre 5 septos angulados, em número de mais ou menos 15 por lóculo, com até 3,5 cm de comprimento, contendo o embrião na base (Mattos, 1980; Pinheiro *et al.*, 1990b; Carvalho, 1994).

A floração ocorre no final do período seco, de setembro a janeiro, logo após a brotação anual, de agosto a setembro. No período seco seguinte, junho a julho, podendo ir até agosto, ocorre a maturação dos frutos e dispersão das sementes, juntamente com a queda das folhas (Pinheiro *et al.*, 1990a).

O grande número de variedades descritas e sinonímias pode ser devido à sua grande variação quanto ao número de folíolos por folha, tamanho do fruto e quantidade e tipo de indumento (Pennington e Styles, 1981). Essa variação,

segundo Amaral (1981), gera alguns problemas no que se refere à nomenclatura e distribuição geográfica da espécie.

A espécie é dita alógama devido à dicogamia (protoginia). Suas flores unissexuais amadurecerem em tempos diferentes (Styles, 1972; Carvalho, 1994), aumentando, assim, suas chances de cruzamento. A espécie é sugerida ser entomófila, por suas flores apresentarem aroma detectável a considerável distância (Styles, 1972), tendo mariposas (Morellato, 1991) e abelhas (Carvalho, 1994) como seus prováveis agentes polinizadores.

Rizzini (1971), citado por Mattos (1980), informa que existem oito espécies do gênero *Cedrela* P. Br., sendo “*uma para a América Central e México, três para as regiões montanhosas da América do Sul; C. paraguariensis* Mart., como o nome está indicando, é do Paraguai, enquanto *C. fissilis* Vell. vai da Argentina até o Peru. *C. odorata* e *C. angustifolia* distribuem-se a partir do norte do México até o Brasil e a Argentina, respectivamente”.

Quanto à *Cedrela fissilis*, o mesmo autor cita: “é peculiar às matas mais secas, podendo, mesmo, subsistir no descampado e até no cerrado”. Normalmente, a espécie é encontrada nas matas fechadas velhas, nas matas ciliares e até nas capoeiras velhas. Apresenta desenvolvimento tanto maior quanto mais fértil e profundo for o solo (Mattos, 1980).

A espécie apresenta ampla distribuição na América Latina, desde o norte da Argentina até o Panamá e Costa Rica, ocorrendo em florestas desde o nível do mar até cerca de 800m de altitude (Pennington e Styles, 1981). Encontra-se no nordeste de Misiones, na Argentina, onde predomina o tipo climático Cfb e também no Setor Planaltense, onde a precipitação média anual é de 1600 a 1900 mm, com temperaturas de até 4°C negativos e 20°C como média anual (Mattos, 1980). Le Cointe (1947), citado por Mattos (1980), referindo-se à ocorrência da espécie no Brasil, informa: “*Conquanto exista no Pará, onde é de todo restrito e*

sem valor, mostra-se vulgaríssimo desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul".

Heringer (1947), também citado por Mattos (1980), fala sobre a ocorrência da espécie em Minas Gerais: "*Forma densos maciços sob a forma de associação vegetal e, algumas vezes, formando gregarismo. Foi encontrado em abundância pelos primeiros que pisaram as terras mineiras desta região. Hoje encontram-se apenas vestígios de sua ocorrência, nos assoalhos das grandes fazendas, feitas de tábua a machado e aparelhadas a enxó, por falta de serras*".

Nas matas, as árvores de cedro ocorrem como indivíduos esparsos, com suas copas alcançando o dossel da floresta. Já em florestas secundárias, a espécie se apresenta em maior densidade (Smith e Earle, 1960), devido à alta regeneração, sendo possível encontrar indivíduos ainda juvenis.

Carvalho (1994) considera ser esta baixa densidade uma estratégia evolutiva da espécie, já que, quando plantada em maior densidade, esta é atacada pela broca do cedro, *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepdoptera: Pyralidae). A broca é atraída pelo cheiro dos ramos novos e ataca brotações, ramos e frutos, destruindo a semente e tem preferência pelos ponteiros apicais. A planta atacada pela broca reage formando novas brotações; porém, tem seu crescimento paralisado quando o ataque é intenso. No caso de ataque aos ponteiros, ocorre exsudação de goma e morte da planta (Pedrosa-Macedo, 1993).

Para o cultivo, Mattos (1980) recomenda que o cedro deve ser plantado consorciado, para evitar o ataque da broca do cedro e também para facilitar o desenvolvimento das mudas nos primeiros anos de cultivo, por proporcionar meia sombra e umidade.

Em áreas de floresta perturbada e áreas abandonadas, a regeneração é bastante efetiva, resultando em alta densidade de indivíduos. No entanto, segundo Chaplin (1980), estas populações devem estar geneticamente

degradadas e em condições precárias, sob contínua ameaça de exploração ou de mudanças no uso da terra.

O cedro apresenta madeira leve, densidade aparente de $0,53 \text{ g/cm}^3$, sendo indicada para móveis finos, folhas faqueadas decorativas, molduras, obras de entalhe, artigos de escritório, instrumentos musicais e construções internas (venezianas, rodapés e outros). Dentre as madeiras leves é uma das que têm maior diversificação de utilizações (Mainieri e Chimelo, 1989). Apresenta moderada resistência a organismos xilófagos.

No Paraguai, *C. fissilis* é considerada uma espécie em perigo de extinção, pela intensa e irracional exploração (Pinazzo, 1992). Num âmbito maior, FAO (1986) acrescenta que a espécie está sob severa erosão genética devido à perda de muitas populações e indivíduos.

Quanto ao número de cromossomos, Styles e Vosa (1971) e Styles e Khosla (1976) apresentam que este é de $2n=56$ para *Cedrela fissilis*, o que é indicado ser um valor intermediário dentre as espécies da família. Os mesmos autores encontraram em *Cedrela odorata* séries de aneuplóides com $2n=50$ e 56 . esse fato indica a existência de raças, sem, no entanto, existir correlação entre diferenças no número de cromossomos e diferenças morfológicas nessa espécie.

A espécie já foi estudada em sua estrutura genética por Gandara (1996), em cujo trabalho foram amostradas 34 árvores de uma população de cedro na Fazenda Intervales (Sete Barras – SP). O autor encontrou valores de diversidade genética (H) igual a 0,222, taxa de cruzamento (t_m) de 0,92 e taxa de cruzamento entre indivíduos ($t_{individual}$) entre 0,62 e 1,08, indicando ser a espécie preferencialmente alógama. O mesmo autor observou extenso fluxo gênico, alcançando distâncias superiores a 950m, de forma a prevenir estruturação populacional por deriva genética e/ou seleção local.

2.4 Eletroforese de isoenzimas

Isoenzimas são diferentes formas moleculares de uma enzima catalisando a mesma reação. Elas podem ser separadas em gel por meio de eletroforese. Quando controladas por um mesmo gene essas enzimas são chamadas de aloenzimas (Alfenas, 1998). A análise das mobilidades eletroforéticas das enzimas produzidas permite a caracterização genotípica de cada indivíduo, bem como as distribuições gênicas em populações e espécies.

O surgimento das isoenzimas como marcadores genéticos no começo da década de 1980 permitiu um grande avanço nos estudos de genética populacional de espécies arbóreas florestais. Estes marcadores vêm sendo muito utilizados com o objetivo de descrever a organização da variação genética em populações naturais de plantas (Hamrick *et al.*, 1981; Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick e Loveless, 1986). Porém ainda são poucos os estudos em espécies arbóreas tropicais, principalmente em espécies de Mata Atlântica (Gandara, 1996; Reis, 1996; Maltez, 1997; Moraes, 1997; Sebbenn, 1997 e 2001; Souza, 1997; Giudice Neto, 1999; Oliveira, 2000).

O uso de marcadores isoenzimáticos se difundiu devido às suas vantagens de custo e rápida execução para estudos genéticos populacionais quando comparadas com outras técnicas. Também, por apresentar algumas propriedades, como codominância, herança mendeliana e ausência de epistasia e pleiotropia (Wendel e Weeden, 1989).

A disponibilidade de número suficiente de locos por espécie permite serem feitas estimativas de diversidade genética e parâmetros de sistema reprodutivo para populações de espécies arbóreas. Para estudos de conservação de recursos genéticos, bem como de especiação em florestas tropicais, informações sobre a diversidade genética em populações naturais são fundamentais (Bucley *et al.*, 1988).

Ainda hoje, marcadores isoenzimáticos são uma excelente ferramenta para responder a muitas questões em conservação genética de espécies arbóreas florestais (Glaubitz e Moran, 2000), mesmo com o advento de técnicas moleculares, como a de microssatélite.

2.5 Variabilidade genética

Uma condição fundamental para que haja evolução é a existência de variação genética. A seleção natural atua entre as variantes dentro das populações em relação à adaptação ao ambiente, proporcionando variação entre populações e, por fim, variação entre espécies (Torggler *et al.*, 1995).

A conservação de espécies tem por base a manutenção dos níveis naturais de variabilidade genética nas populações (Yeoh, Kang e Chung, 1996). Frankel (1983) afirma que o conhecimento dos níveis e distribuição da variação genética dentro e entre populações é de fundamental importância para o estabelecimento de práticas conservacionistas efetivas e eficientes. Segundo Sebbenn (1997), já é concordância entre os geneticistas que o sucesso de um programa de conservação genética é diretamente dependente dos níveis de variabilidade genética das populações de interesse.

Kageyama, Castro e Carpanezi (1989) apontam que, para a conservação dos recursos genéticos, é também importante associar a estrutura genética das espécies em trabalhos de recomposição.

O entendimento do papel da variação genética na dinâmica das populações das espécies arbóreas foi apontado por Kageyama e Gandara (1993). Esses autores indicaram ser este entendimento primordial para o manejo sustentado e conservação genética na floresta tropical.

A variabilidade genética nas populações naturais de espécies tropicais vem sendo caracterizada com base em levantamentos alozimicos e, mais recentemente, utilizando microssatélites. Foram reveladas expressivas variações

nos níveis de diversidade genética, como porcentagem de locos polimórficos e número de alelos por loco. Contudo, nem todos os trabalhos incluem os locos monomórficos ou são realizados com grande número de locos, o que compromete as comparações entre espécies.

2.6 Estrutura genética

A estrutura populacional de uma espécie é definida como o conjunto de características genéticas e demográficas resultantes da ação e das interações de vários mecanismos evolutivos e ecológicos (Martins, 1987).

Do ponto de vista ecológico, a estrutura genética é caracterizada pela densidade populacional, natureza das relações entre os indivíduos e o ambiente e as interações entre indivíduos e populações locais. Já do ponto de vista genético-evolutivo, a estrutura genética é caracterizada pela variabilidade morfológica e quantitativa existentes entre indivíduos, sistema reprodutivo, padrões de fluxo gênico e estratégias adaptativas aos ambientes locais (Martins, 1987).

A estrutura genética de uma espécie é definida como a medida dos padrões de variação dada pela diversidade genética da população, a variação nos níveis de diversidade em diferentes populações e a extensão e variação em correlação ou distância genética entre populações (Brown, 1978). Isto é, trata-se da forma como a variabilidade genética está distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma espécie. Portanto, populações geográficas distintas, plantas dentro de um grupo local e mesmo grupos de progênes podem apresentar estrutura genética.

O uso do termo 'estrutura genética' tem sido usado de várias maneiras. Por isso, teve sua definição limitada por Loveless e Hamrick (1984), como distribuição não casual de alelos ou genótipos no tempo e no espaço, sendo desprezados outros fatores que possam também afetar as frequências alélicas e genotípicas, como a organização do genoma e os processos meióticos.

Em espécies de plantas, devido à sua mobilidade limitada, a estrutura genética pode estar associada à distribuição espacial e temporal dos genótipos (Brown, 1978; Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick, 1989). Dessa forma, as espécies podem apresentar estruturação como resultado da heterogeneidade ambiental e da pressão de seleção diferencial. A estrutura espacial refere-se à distribuição espacial dos genótipos, sendo uma característica própria da espécie e determinada, principalmente, pelo seu sistema de reprodução e pelos padrões de dispersão de sementes, pólen e propágulos. Devido aos sistemas de reprodução e dispersão, e também história de vida, uma espécie pode desenvolver estrutura espacial agrupada, dando origem a subpopulações com maior grau de parentesco dentro dos grupos do que entre os grupos.

A estrutura genética temporal, no entanto, refere-se à subdivisão de gerações. Por exemplo, entre pais e filhos ou, ainda, às diversas gerações contidas em um banco de sementes ou de germoplasma.

A estrutura genética é desenvolvida e mantida devido às interações de um conjunto complexo de fatores evolucionários, como variação no conjunto gênico, organização desta variação em genótipos, distribuição espacial dos genótipos, sistema de reprodução que controla a união dos gametas para a formação das progênies, dispersão das progênies, seleção, deriva, mutação, eventos casuais, e processos de crescimento, mortalidade e reposição de indivíduos, que darão origem às populações futuras (Clegg, 1978; Hamrick, 1983; Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick, 1989; Alvarez-Buylla e Garay, 1994). A diferenciação entre populações geralmente deve-se à seleção e deriva genética, sendo o fluxo gênico um fator contrário a estas forças (Hamrick, 1989).

Em populações naturais, os estudos de variação genética envolvem duas questões básicas (Hamrick, 1983). São elas: descrever os níveis de variação genética mantidos dentro das populações ou espécies e descrever o modo como a

variação genética está partilhada dentro e entre as populações. Essa última é de particular interesse para a conservação dos recursos genéticos e fundamental para o manejo racional dos recursos de populações naturais.

Em estudos da estrutura intrapopulacional de espécies arbóreas, tem-se observado distribuição não aleatória de alelos e genótipos dentro das populações (Ledig, 1974; Coles e Fowler, 1976; Dewey e Heywood, 1988; Loveless e Hamrick, 1984; Knowles *et al.*, 1992; Chung e Epperson, 2000). Isso pode ser devido à dispersão de pólen e sementes, habitat de distribuição e seleção microambiental (Hamrick, 1983; Epperson, 1990).

Segundo Coles e Fowler (1976), a relação temporal e espacial entre indivíduos próximos aumenta a probabilidade de intercruzamento. Se os mecanismos de dispersão de pólen e sementes forem restritos a uma pequena vizinhança, aumentam as chances de estes indivíduos serem aparentados, gerando endogamia. Dentro de populações naturais de espécies arbóreas, grande parte da endogamia observada é determinada pela distância e taxa com que os genes migram dentro e entre populações (Coles e Fowler, 1976). A outra parte é determinada por seu sistema de reprodução, mais especificamente pela taxa de autofecundação.

Como o movimento de genes é extenso, resultando em fluxo gênico a longa distância, espera-se baixa endogamia dentro das populações e baixa divergência genética entre populações. De outro modo, sendo o fluxo gênico limitado e a troca gênica entre árvores vizinhas comum, pode ocorrer uma alta proporção de endogamia dentro das populações e divergência entre populações (Coles e Fowler, 1976). No caso de o movimento de genes via pólen ser longo e o movimento via sementes ser restrito, baixos níveis de endogamia dentro das populações, níveis moderados de divergência genética entre populações e altos níveis de parentesco dentro das populações são esperados.

Segundo Hamrick (1983), do ponto de vista da conservação genética, a perda de parte de uma população subdividida em estrutura de famílias pode ser tão crítica, no sentido genético, quanto a perda de uma população inteira. Isso porque a variabilidade genética dentro das populações é principalmente garantida pela variabilidade genética existente entre subpopulações.

Esenbeckia leiocarpa é uma espécie arbórea tropical de estágio final de sucessão, que ocorre em grupos de até 100 indivíduos. Seoane, Kageyama e Sebbenn (2000) encontraram, nessa espécie, parentesco dentro e variabilidade isoenzimática entre subpopulações. Concluíram os autores que a variabilidade genética entre as subpopulações é importante para a evolução e perpetuação da espécie.

Os estudos de estrutura genética são fundamentados no teorema de Hardy-Weinberg, o qual é a base da teoria genética da evolução. O teorema assume, sob certas premissas, que de uma geração para a outra não há mudança na abundância relativa dos alelos; a única mudança na composição genética da população é a redistribuição dos genótipos em frequências que serão mantidas em todas as gerações subseqüentes (Futuyma, 1992).

Segundo Futuyma (1992), as premissas subordinadas a este teorema são: o tamanho da população é infinito ou efetivamente infinito; os indivíduos cruzam-se aleatoriamente; os alelos são igualmente competentes na síntese de cópias de si mesmos (isto implica ausência de seleção) e não ocorre introdução de novas cópias de qualquer alelo a partir de fonte externa, ou seja, não há migração ou mutação.

Segundo o mesmo autor, as discrepâncias entre uma população “ideal” de Hardy-Weinberg e as populações reais são os ingredientes da evolução.

Dessa forma, tomando-se como referência o teorema de Hardy-Weinberg, as principais forças microevolutivas podem ser tomadas como desvios deste equilíbrio. Ou seja, a formação de estrutura decorre de fatores

como sistema reprodutivo, níveis de endogamia, seleção natural, fluxo gênico e deriva genética entre e dentro das populações (Reis, 1996).

2.7 Sistema reprodutivo

O sistema reprodutivo é um dos fatores preponderantes na formação da estrutura genética espacial e temporal, por determinar como as informações genéticas serão transmitidas entre gerações (Wright, 1921). Portanto determina a distribuição da variabilidade genética entre progênie de um indivíduo, entre indivíduos de uma população e entre subdivisões de uma população (Hamrick, 1982).

Particularmente em espécies hermafroditas, o sistema de reprodução é determinado tanto por fatores genéticos, como grau de incompatibilidade; como por fatores ecológicos, como hábito de forrageamento do polinizador, fenologia floral, aborto seletivo de frutos e densidade da população (Murawski e Hamrick, 1991).

Em populações de plantas o estudo do sistema reprodutivo vem sendo feito por meio de estudos de biologia floral e ecologia da polinização e, mais recentemente, utilizando-se marcadores bioquímicos e moleculares, principalmente os isoenzimáticos. Os dados isoenzimáticos combinados com programas genético-estatísticos possibilitam a estimação da taxa de cruzamento das populações, de modo que se possa inferir sobre o sistema reprodutivo de uma espécie.

As estimativas das taxas de cruzamento podem ser obtidas por dois métodos: método dos momentos, obtendo-se a taxa de cruzamento aparente(t_a) a partir dos coeficientes de endogamia (f) (Weir, 1990; Vencovsky, 1992) e estimativas de máxima verossimilhança (Ritland e Jain, 1981; Ritland e El Kassaby, 1985).

Em espécies arbóreas, estudos têm mostrado haver uma variação considerável nos sistemas reprodutivos, variando desde sistema misto até alogamia completa e variando também entre diferentes anos e entre diferentes populações (Murawski *et al.*, 1990; Murawski *et al.*, 1994; Murawski e Bawa, 1991; Hamrick e Murawski, 1991, Hall, Orrel e Bawa., 1994).

Em espécies de baixa densidade, alguns estudos têm indicado que há aumento nas taxas de autofecundação e heterogeneidade nas frequências alélicas do pólen (Murawski *et al.*, 1990; Hamrick e Murawski, 1991; Hall, Orrel e Bawa., 1994). Segundo Gandara (1996), a autofecundação em espécies raras é dada como alternativa à reprodução, devido à grande distância existente entre os indivíduos. Portanto, a taxa de cruzamento encontrada não deve ser muito elevada nessas espécies ou esta deve apresentar variação considerável entre indivíduos e entre anos com diferentes intensidades de floração.

2.8 Fluxo gênico

O termo 'fluxo gênico' é dado a todos os mecanismos que resultam em movimento de genes de uma população para outra e determina a extensão para qual são independentes às mudanças genéticas em populações locais (Slatkin, 1985).

De acordo com Futuyma (1992), diferenças na estrutura da população são correspondentes aos diversos modelos de fluxo gênico, dentre os quais:

1. modelo de "continente-ilha", que se baseia no movimento unidirecional de uma fonte efetivamente grande ou "continental" para uma menor isolada. Este modelo aplica-se a populações de plantas que apresentam dispersão a longas distâncias (Barret e Husband, 1989);
2. modelo de "ilhas", onde a migração multidirecional se dá entre subpopulações, isto é, ocorre ao acaso entre um grupo de pequenas populações;

3. modelo de “alpondras” (“*stepping-stones*”), onde a migração se dá somente entre populações vizinhas;
4. modelo de “isolamento por distância”, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre vizinhos, em uma população contínua.

Considera-se que o fluxo gênico ocorre, na maioria dos modelos, a uma taxa aproximadamente constante em cada geração; no entanto, o fluxo gênico tem o efeito de homogeneizar a composição genética em qualquer um dos modelos de estrutura populacional, isto é, tendo como único fator operante o fluxo gênico, todas as populações convergirão para a mesma frequência alélica (Futuyma, 1992).

As estimativas do fluxo gênico podem ser feitas por métodos diretos e indiretos. As medidas diretas são baseadas na distância de transporte dos grãos de pólen e sementes, enquanto que as indiretas baseiam-se na relação inversa entre a divergência entre populações e a taxa de migração (m), considerando um modelo de ilhas (Reis, 1996). O fluxo gênico abordado pela correlação entre divergência e migração permite quantificar o movimento de indivíduos ou gametas por meio de parâmetros que independem do tamanho da população.

No modelo de ilhas, o parâmetro utilizado pode ser o número de migrantes (Nm), que mede o número de indivíduos ou gametas que se movem. Em modelos contínuos (isolamento por distância), é quantificado o tamanho de vizinhança (Nb) (Slatkin e Barton, 1989) que, como citado por Sebbenn (1997), corresponde ao número médio de indivíduos em uma área onde ocorre panmixia.

Os valores de Nm e Nb determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética significativa entre os locais. Segundo Slatkin e Barton (1989), valores de Nm ou Nb maiores que 1,0 indicam fluxo gênico suficientemente alto, de modo a prevenir diferenciação entre populações devido à deriva. Sendo que, quando Nm é igual a 1, por geração, a diferenciação entre

populações não será significativa ou, conforme Reis (1996), os efeitos da migração são suficientes para contraporem-se aos efeitos da deriva.

2.9 Tamanho efetivo (N_e)

O tamanho de uma população ou vizinhança que apresenta a mesma redução na variabilidade genética, seja por endogamia ou por deriva de uma população de referência, panmítica, é representada como tamanho efetivo (Crow e Kimura, 1970; Lande, 1988). Sebbenn (2001) cita que o tamanho efetivo populacional (N_e) se refere ao grau de representatividade genética presente em uma amostra (n) de plantas, sementes ou propágulos.

Vários fatores afetam o tamanho efetivo, como o desigual número de indivíduos masculinos e femininos, a variação no tamanho das progênes, as flutuações temporais no tamanho da população (Wright, 1969), a sobreposição de gerações, a presença de estruturação e endogamia dentro das populações, a fertilidade diferencial na função masculina e feminina entre genótipos e o assincronismo no florescimento (Loveless e Hamrick, 1984; Lande, 1988). No entanto, o tamanho efetivo é dependente, principalmente, dos níveis de endogamia e parentesco existentes na amostra. Quanto maiores estes níveis, menor é a representatividade genética da amostra (Vencovsky, 1987). Todos estes fatores implicam em diferenças entre o tamanho efetivo e o tamanho censo (N).

Sebbenn (1997) e Kageyama e Lepsh-Cunha (2001) apontam para a importância de se determinar o N_e de forma a estimar a área mínima viável para a conservação *in situ* de uma espécie. Entretanto, ainda vem sendo bastante discutido um número ideal para a conservação de uma espécie. Para este fim, são sugeridos N_e de 50 como suficiente para prevenir a perda de alelos raros em poucas gerações e N_e de 500 para conservação destes alelos a longo prazo (Frankel e Soulé, 1981).

2.10 Autocorrelação espacial de genótipos

Em espécies arbóreas, grande parte da diversidade genética é constituída de variação dentro de populações (Hamrick *et al.*, 1981). Esta distribuição é reflexo da ação de processos genéticos, como seleção e deriva genética, ocorrendo na população (Young, Merriam e Warwick, 1993) ou seleção em microhabitats e deriva genética devido ao fluxo gênico restrito, podendo causar distribuição não aleatória de genótipos em populações naturais (Wright, 1946; Sokal, Jacquez e Wooten, 1989; Epperson, 1990; Loveless e Hamrick, 1984). Teoricamente, dispersão limitada e cruzamento entre indivíduos próximos resultam em isolamento genético pela distância, mesmo em populações contínuas e grandes (Epperson, 1995).

Endogamia e variação espacial nas freqüências alélicas são resultantes de cruzamento entre indivíduos com parentesco. Outros fatores, como o padrão de deposição de sementes, dispersão de pólen, densidade de indivíduos adultos, seleção em microhabitats e aspectos relativos ao recrutamento, também são citados como agentes que afetam a estrutura genética espacial dentro de populações (Howe e Smallwood, 1982; Hamrick e Loveless, 1986). Portanto, a distribuição espacial da variação genética dentro de populações tem conseqüências genéticas e ecológicas, pelo fato de resultar em agregados de genótipos particulares (Shapcott, 1995).

Para espécies com baixa densidade de indivíduos adultos, Hamrick, Murawski e Nason (1993) consideram que seria encontrada maior heterogeneidade genética espacial resultante da dispersão de sementes, em comparação às espécies que ocorrem em alta densidade. Este fato ocorreria especialmente em espécies com dispersão de sementes restrita, pois, nestas espécies, os locais onde ocorrem as plântulas filhas de cada árvore adulta apresentariam pequena sobreposição.

O conhecimento da estrutura genética espacial, então, mostra-se importante para o estabelecimento de estratégias de amostragem de populações naturais. Isto ocorre tanto para a conservação genética e para fins de melhoramento, possibilitando a formação de amostras mais significativas, assim como para práticas de manejo que visam minimização de impactos.

A análise de autocorrelação espacial é um conjunto de procedimentos estatísticos delineados para detectar e quantificar a dependência de uma variável baseado em valores amostrados de localidades múltiplas mapeadas em um espaço geográfico (Heywood, 1991).

Entre as variáveis às quais a análise de autocorrelação pode ser utilizada estão: variação geográfica de caracteres morfológicos, frequências gênicas, padrões de distribuição dos genótipos ou, ainda, abundância de espécies (Sokal e Oden, 1978). Para dados delimitados em intervalos, tais como as frequências gênicas, o coeficiente de autocorrelação é a estatística denominada índice I de Moran.

O índice I de Moran assume valores de -1 a $+1$, em que sob hipótese nula de independência espacial este valor está próximo de zero (Sokal e Oden, 1978; Heywood, 1991).

O coeficiente de autocorrelação espacial é obtido da correlação de uma variável em pares de pontos em um plano. Contudo, nem todos os pares de pontos serão relacionados, mas apenas aqueles considerados vizinhos (Sokal e Oden, 1978). A análise de frequências alélicas por meio de estatísticas espaciais exige que sejam associadas a cada uma das populações locais ou indivíduos coordenadas espaciais ou geográficas (latitude e longitude, por exemplo). Pode-se então imaginar que a variação existente pode ser representada em um espaço tridimensional, onde os eixos X e Y representam as coordenadas espaciais e o eixo Z as frequências alélicas (Diniz Filho, 1998).

Os métodos mais freqüentemente utilizados para analisar autocorrelação espacial são o algoritmo do vizinho mais próximo e a conexão de Gabriel (Sokal e Oden, 1978; Dewey e Heywood, 1988; Heywood, 1991, Gandara, 1996, Maltez, 1996; Souza, 1997; Moraes, 1997; Lacerda, 1997; Giudice Neto, 1999).

No método do vizinho mais próximo, cada indivíduo é conectado apenas com o mais próximo. Para pares conectados recebem peso $w=1$ e todos os outros pares de localidades possíveis recebem $w=0$, não contribuindo para o cálculo (Dewey e Heywood, 1988; Heywood, 1991). Este método tem maior poder de detecção de estrutura espacial, porém, resulta em muitos grupos de indivíduos desconectados (Heywood, 1991).

Na conexão de Gabriel, dois indivíduos A e B são considerados conectados, recebendo peso 1, se nenhum outro indivíduo ocorrer sobre ou dentro de um círculo cujo diâmetro é o segmento de reta AB (Sokal e Oden, 1978). Este método gera mais pares amostrais, reduzindo o erro padrão das estatísticas de autocorrelação estimada (Heywood, 1991).

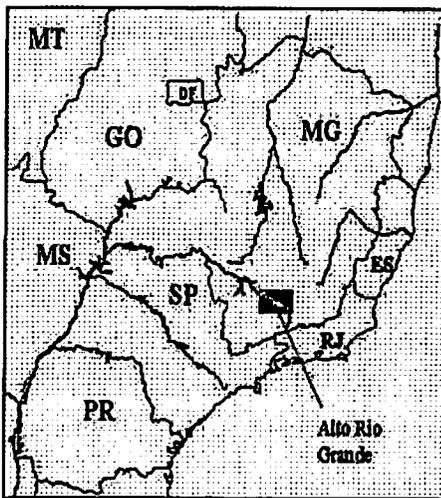
Um outro método que vem sendo utilizado é baseado na autocorrelação de pares de localidades em um número arbitrário de pontos ou unidades de distâncias geográfica. O objetivo é demonstrar como a autocorrelação muda em função da distância entre pontos (Sokal e Oden, 1978), por meio de um gráfico denominado correlograma.

3 MATERIAL E MÉTODOS

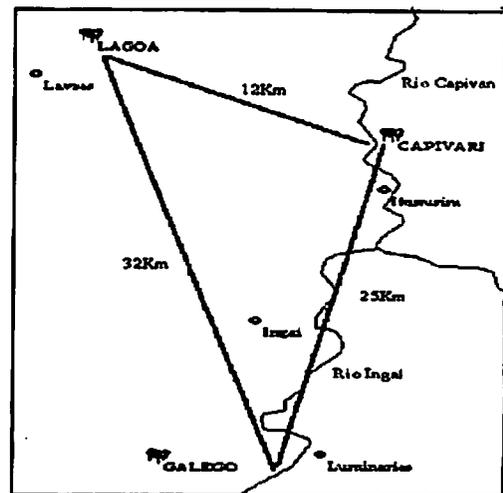
3.1 MATERIAL

3.1.1 Locais de estudo

O estudo foi realizado em três populações naturais de *Cedrela fissilis*, referentes a três fragmentos florestais, localizados na região do Alto Rio Grande no sul de Minas Gerais (Figura 1 A e B).



(A)



(B)

FIGURA 1. Situação da Região do Alto Rio Grande no Brasil (A) e localização das áreas de estudo na região entre os municípios de Lavras e Luminárias, MG (B).

3.1.1.1 Mata do Galego

A Mata do Galego, como é localmente conhecida, é um fragmento florestal de aproximadamente 77 ha, localizado no município de Luminárias, nas

Fazendas Barreiro e Morro Grande, às margens do Rio Ingaí, nas coordenadas 21°29'S e 44°55'W (Figura 2). Possui representações de Floresta Estacional Semidecidual Aluvial e Floresta Estacional Semidecidual Montana, devido ao desnível de cerca de 121 m da borda da mata até o rio, o que proporciona um gradiente ambiental e vegetacional. Foram identificadas duas classes de solos no fragmento: Cambissolo Háplico e Argissolo Vermelho (Rodrigues, 2001).

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cwb, caracterizado por verão úmido e inverno seco. De acordo com a Estação Meteorológica de Lavras, a temperatura média anual é de 19,61°C, com médias mensais variando entre 21,8°C em janeiro e 16,0°C em julho. A precipitação média anual é de 1.517 mm (Oliveira Filho *et al.*, 1994).



FIGURA 2. Parte da imagem de satélite do município de Luminárias, MG, mostrando um dos fragmentos estudados, onde localiza-se a Mata do Galego.

Segundo Rodrigues (2001), o fragmento sofreu intervenções desde a década de 1930, onde áreas eram abertas para o plantio de milho, feijão e arroz por cerca de dois anos. Após este período, as áreas de plantio foram abandonadas e outras eram abertas para novos cultivos, com ciclos de aproximadamente dez anos de duração. Uma estrada foi aberta margeando o rio, dentro da mata, para permitir a retirada de cascalho do rio e madeira. A

exploração de cascalho e madeira já não mais ocorre, porém, em uma das fazendas há entrada de gado. O fragmento possui ligações com outros remanescentes.

Mata do Capivari

Este fragmento florestal localiza-se ao longo da margem esquerda do rio Capivari (21°16'23" S e 44°52'53" W), no município de Lavras e apresenta aproximadamente 14 ha. O fragmento encontra-se na encosta de morro onde as altitudes variam de 825 a 875 m, com declives de 10° a 45°. Na área são predominantes os solos tipo Argissolos, ocorrendo manchas de Cambissolos e, nas margens do rio Capivari, Neossolos Flúvicos (Souza, 2001). A maior parte do fragmento é classificada como Floresta Estacional Semidecidual Montana, com uma faixa estreita de Floresta Estacional Semidecidual Aluvial, segundo classificação do IBGE (Veloso, Rangel Filho e Lima, 1991).

Lavras apresenta clima tipo Cwb de Köppen, com verões brandos e suaves e invernos com estiagem. A média anual da temperatura é de 19,4°C, variando de 15,8°C em julho a 22,1°C em janeiro e precipitação de 1.529,7 mm (J.A., comunicação pessoal), com 66% da precipitação ocorrendo no período de novembro a fevereiro (Oliveira Filho *et al.*, 1994).

Segundo J.A.A. Pereira (comunicação pessoal), na área já houve exploração de jequitibá, cedro e jacarandá para serraria; aproximadamente em 1940, a mata foi cortada para formação de roça de feijão e milho. Parte da roça, então, foi abandonada, dando origem a esta. Este fragmento pode ser dividido em duas áreas, sendo uma usada como bosqueado na criação de gado (floresta secundária) e a outra área, de 9,78 ha (floresta madura), foi a área de estudo (Figura 3). Nesta última, existem trilhas internas utilizadas por pescadores; há entrada de gado e retirada de lenha para carvão doméstico; grande quantidade de

lixo, que é carregado pelo rio, é depositado na curva do rio às margens do fragmento.

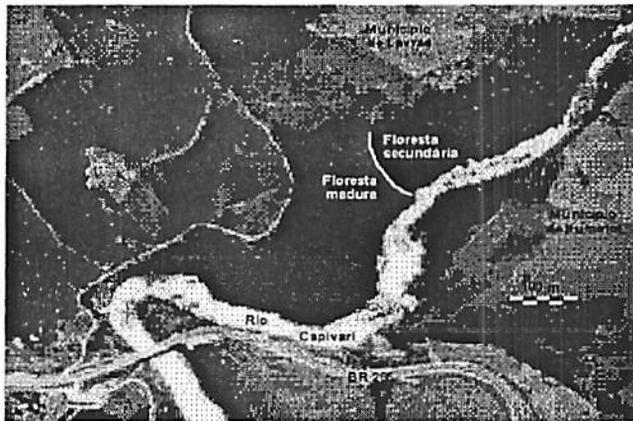


FIGURA 3. Vista aérea do fragmento Mata do Capivari, onde são indicadas as áreas de floresta madura (área de estudo), e de floresta secundária.

3.1.1.2 Mata da Lagoa

O fragmento situa-se no município de Lavras, localizado dentro da Fazenda Beira Lago ($21^{\circ}13'00''S$ e $44^{\circ}58'49''W$), apresenta área de 3,99 hectares e altitude variando de 855 a 902 m (Figura 4). A vegetação, segundo a classificação do IBGE, constitui-se de Floresta Estacional Semidecidual Montana. No fragmento são encontrados dois tipos de solos, Argissolo Vermelho Amarelo distrófico típico, na parte leste e Nitossolo Vermelho Eutroférico típico, na parte oeste do fragmento (R.T. Borém, comunicação pessoal).

O clima do fragmento é o mesmo descrito para o fragmento da Mata do Capivari.

A área se encontra muito alterada, sendo encontrado bastante lixo e grande número de clareiras, devido à entrada de gado e corte de madeira (J.A.A.

Pereira, comunicação pessoal). Às bordas do fragmento encontram-se pastagens e estrada ao norte; ao sul encontram-se um curral e um lago, utilizado como pesqueiro. Próximos à lagoa localizam-se um bar/pesqueiro e um clube de campo estando o fragmento, portanto, localizado muito próximo à cidade de Lavras.



FIGURA 4. Vista aérea de um trecho onde está localizada a Mata da Lagoa (centro da figura).

3.1.2 Coleta de Material

Para a amostragem dos indivíduos de *Cedrela fissilis*, toda a área dos fragmentos foi levantada, de modo a amostrar indivíduos reprodutivos ou não.

A coleta das folhas e frutos foi efetuada com o auxílio de bicicleta florestal, podão e atiradeira (estilingue), devido à altura dos indivíduos (em torno de 20-30 m). A coleta dos frutos foi em julho/agosto de 2000, antes de sua deiscência natural.

Os frutos coletados foram colocados em local ventilado até sua abertura natural para possibilitar a retirada das sementes. Essas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e armazenadas no Laboratório de

Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da UFLA em câmara fria, a 6°C e 70% de UR, até a semeadura.

A semeadura ocorreu em novembro de 2000, tem sido semeados 27 descendentes por família. A coleta dos folíolos das progênies foi feita a partir do 6º mês após a semeadura. Para a análise de cada família foram usadas, em média, 20 progênies.

Em junho/julho de 2001 foram feitas as coletas de folhas de 47, 14 e 5 indivíduos adultos, e progênies de 15, 2 e 2 indivíduos da Mata do Galego, do Capivari e da Lagoa, respectivamente. As amostras foliares foram transportadas em gelo e armazenadas em freezer (-18°C), de modo a não permitir a degradação das enzimas. A extração foi feita no menor prazo possível, no Laboratório de Melhoramento Florestal e Biologia Molecular do Departamento de Ciências Florestais da UFLA.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Análises eletroforéticas

Para a extração das enzimas foram usados 200 mg de tecido foliar, areia lavada, 5 mg de PVP e 1 ml de solução tampão nº1 de Alfenas *et al.* (1998). As folhas foram maceradas manualmente mediante uso de almofariz e pistilo de porcelana previamente resfriados, sendo a extração feita também à baixa temperatura. Os extratos foram colocados em eppendorfs previamente identificados e levados à centrifugação a 12.000 rpm a 4°C por 10 minutos. De 20 a 40 µl de sobrenadante, dependendo do sistema enzimático utilizado, foram aplicados na canaleta do gel para proceder à corrida eletroforética.

As corridas eletroforéticas foram feitas em cuba vertical, tendo como suporte gel de poliacrilamida, sendo o gel de concentração de 4% e o gel de

separação de 12,5%. Para a eletroforese foi usada amperagem de 10 mA por gel, tendo a corrida duração de aproximadamente 3,5 horas, sendo feita à temperatura de 4°C.

Testaram-se 21 sistemas enzimáticos (Tabela 1), dos quais cinco foram escolhidos para a análise dos dados por apresentarem bandas polimórficas e passíveis de interpretação.

TABELA 1. Sistemas enzimáticos testados, suas siglas e código da enzima

SISTEMAS ENZIMÁTICOS	SIGLAS	EC
Alcool desidrogenase	ADH	1.1.1.1
Enzima málica	ME	1.1.1.40
Esterase (α e β)	EST	3.1.1.1
Fosfatase ácida	ACP	3.1.3.2
Fosfoglucomutase	PGM	5.4.2.2
Fosfogluco isomerase	PGI	5.3.1.9
Glucose desidrogenase	GDH	1.1.1.47
Glucose-6-fosfato desidrogenase	G6PDH	1.1.1.49
6-Fosfogluconato desidrogenase	PGDH	1.1.1.44
Glutamato oxaloacetato transaminase	GOT	2.6.1.1
Isocitrato desidrogenase	IDH	1.1.1.42
Leucina aminopeptidase	LAP	3.4.11.1
Malato desidrogenase	MDH	1.1.1.37
Peroxidase	PO	1.11.1.7
Superóxido dismutase	SOD	1.15.1.1
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.1.1.25
Catalase	CAT	1.11.1.6
Fosfatase alcalina	AKP	3.1.3.1
β -galactose desidrogenase	β -GLDH	1.1.1.48
Sorbitol desidrogenase	SDH	1.1.1.14
Glutamato desidrogenase	GTDH	1.4.1.3

EC: "Enzyme Commission".

Após a corrida eletroforética, procedeu-se à revelação do géis, de acordo com o sistema enzimático utilizando-se protocolos já estabelecidos (Alfenas *et al.*, 1998). Revelado o gel, este foi lavado em água corrente, para remoção do excesso de solução de revelação e fixado em solução de glicerol 10%. Para

documentação dos géis, estes foram secos entre folhas de celofane mediante o uso do conjunto Gel Dryer (modelo 583) e Vacuum Pump da BioRad.

3.2.2 Interpretação dos zimogramas

Os géis arquivados foram interpretados com base no proposto por Alfenas *et al.* (1991). As zonas codificadoras foram identificadas a partir de sua migração relativa; aquelas de maior migração (mais catódicas) foram identificadas como 1, as de migração inferior ao 1 como 2, e assim por diante. Esta identificação foi usada tanto para os locos como para os alelos.

Pela interpretação dos zimogramas, fez-se a genotipagem de todos indivíduos, de modo a se obter dados para a estimação dos parâmetros de interesse.

3.2.3 Análises estatísticas

3.2.3.1 Caracterização da variação genética

Em cada população, procedeu-se à caracterização da variação genética pela estimativa das frequências alélicas e dos índices de diversidade (heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada segundo as expectativas do equilíbrio de Hardy-Weinberg, número de alelos por loco e porcentagem de locos polimórficos) segundo Brown e Weir (1983) e Nei (1987). Foi considerado polimórfico o loco em que a frequência do alelo mais comum não excedesse a 0,99.

O programa BIOSYS-1 (Swofford e Selander, 1989) foi empregado na obtenção das estimativas. Este programa fornece ainda os índices de fixação de Wright ao nível do loco, média entre os locos e média entre as populações.

3.2.3.1.1 Estimativas das freqüências alélicas

A estimativa das freqüências alélicas para as populações é dada por:

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

sendo:

\hat{p}_{ij} : freqüência do alelo i na população j ;

n_{ij} : número de ocorrências do alelo i na população j ;

n_j : número total de alelos amostrados na população j .

3.2.3.1.2 Estimativa dos índices de diversidade genética

A variabilidade genética foi caracterizada a partir das freqüências alélicas e dos seguintes índices de diversidade genética: número médio de alelos por loco (A), porcentagem de locos polimórficos (P) heterozigiosidade média observada (H_o) e heterozigiosidade média esperada (\hat{H}_e), de acordo com equilíbrio de Hardy-Weinberg,

Heterozigiosidade média observada (H_o)

A heterozigiosidade média observada foi obtida por meio da média aritmética de todos os locos analisados.

Heterozigiosidade média esperada (\hat{H}_e)

A heterozigiosidade esperada foi estimada para cada loco, conforme Nei (1978):

$$\hat{H}_e = 2n \frac{(1 - \sum \hat{p}_i^2)}{(2n - 1)}$$

sendo n o número de indivíduos amostrados na população em questão.

A heterozigosidade média foi calculada por meio da média aritmética de todos os locos analisados.

Porcentagem de locos polimórficos (P)

Um loco é considerado polimórfico quando a frequência de seu alelo mais comum não ultrapassar 0,95. Para determinar esta medida de polimorfismo, foram testados vários sistemas enzimáticos. Dessa forma, P foi obtido pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos.

Número médio de alelos por loco em cada população (A)

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

3.2.3.2 Caracterização da estrutura genética das populações

O estudo de estrutura genética entre e dentro de populações foi feito mediante três critérios: estatística F de Wright, coeficiente de coancestralidade de Cokerham e decomposição da heterozigosidade total em componentes entre e dentro de populações.

3.2.3.2.1 Estatísticas F

As estatísticas F de Wright foram calculadas pelo programa POPGEN, conforme Nei (1977):

$$\hat{F}_{IT} = 1 - H_{ot} / \hat{H}_{ei}$$

$$\hat{F}_{IS} = 1 - H_{oi} / \hat{H}_{ei}$$

$$\hat{F}_{ST} = 1 - H_{ei} / \hat{H}_{ot}$$

em que \hat{F}_{IT} , \hat{F}_{IS} , \hat{F}_{ST} são os estimadores de F_{IT} , F_{IS} e F_{ST} , e:

$$\hat{H}_{ot} = 1 - \sum \sum X_{ij} / I_s$$

$$\hat{H}_{ei} = 1 - (\sum_i \sum_l \sum_k x_{ilk}^2) / 1s$$

$$\hat{H}_{et} = 1 - [(\sum_l \sum_k x_{ilk}) / s]^2 / l$$

sendo,

\hat{H}_{et} : heterozigosidade esperada considerando todas as populações

\hat{H}_{ot} : heterozigosidade observada total

\hat{H}_{ei} : heterozigosidade esperada média dentro das populações

X_{il} : frequência de heterozigotos do loco l na população i

X_{ilk} : frequência do alelo k do loco l na população i

s: número de populações

l: número de locos

3.2.3.2.2 Coeficiente de coancestralidade

Os mesmos parâmetros F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} também foram estimados por meio de análise de variância de frequências alélicas (Weir, 1996), pelo programa GDA (Lewis e Zaykin, 1999), para verificar se há consistência com as estimativas obtidas conforme o método anterior. Este enfoque, originalmente proposto por Cockerham (1969), interpreta tais parâmetros como correlações intraclasse, podendo ser estimados conforme uma análise de variância. Na notação desse autor, $F_{IS} = f$, $F_{IT} = F$ e $F_{ST} = \theta$. A análise de variância foi baseada no seguinte modelo hierárquico:

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

sendo:

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

μ : média geral;

p_k : efeito da população k;

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

$g_i(jk)$: efeito do alelo i dentro do indivíduo j dentro da população k.

O esquema da análise de variância está apresentado na Tabela 2. Conforme (Weir, 1996), os componentes de variância têm a seguinte interpretação:

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

$$\sigma^2_I = (f - \theta)$$

$$\sigma^2_p = \theta$$

TABELA 2. Esquema da análise de variância das freqüências alélicas, com as esperanças dos quadrados médios, E(QM)¹.

Causa da variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)
Entre populações	r-1	QMP	$\sigma^2_G + 2\sigma^2_I + 2n_c\sigma^2_p$
Indivíduos dentro de populações	$\sum_{i=1}^r (n_i - 1)$	QMI	$\sigma^2_G + 2\sigma^2_I$
Alelos dentro de indivíduos	$\sum_{i=1}^r n_i$	QMG	σ^2_G

¹r = número de populações; n = número de indivíduos da população i;

$$n_c = \frac{1}{r-1} \left[\sum ni - \frac{\sum n_i^2}{\sum ni} \right]$$

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

$$\hat{\sigma}^2_G = \text{QMG}$$

$$\hat{\sigma}^2_I = (\text{QMI} - \text{QMG})/2$$

$$\hat{\sigma}^2_p = (\text{QMP} - \text{QMI})/2n_c$$

$$\hat{F} = (\hat{\sigma}^2_p + \hat{\sigma}^2_I) / (\hat{\sigma}^2_p + \hat{\sigma}^2_I + \hat{\sigma}^2_G)$$

$$\hat{\theta} = (\hat{\sigma}^2_p) / (\hat{\sigma}^2_p + \hat{\sigma}^2_I + \hat{\sigma}^2_G)$$

Assim, o parâmetro f pode ser estimado, então, por:

$$\hat{f} = (\hat{F} - \hat{\theta}_p) / (1 - \hat{\theta}_p)$$

Este mesmo modelo foi utilizado para estimar os coeficientes de coancestralidade para as progênes, sendo analisados indivíduos dentro de progênes. A notação do coeficiente de parentesco de indivíduos dentro de populações $\hat{\theta}_p$ é substituída por $\hat{\theta}_F$, para coeficiente de parentesco de indivíduos dentro de famílias.

3.2.3.3 Sistema reprodutivo

O programa “MLTR” de Ritland (1997) foi utilizado para analisar o sistema reprodutivo das populações de *Cedreia fissilis*, baseado no modelo de cruzamento misto de Ritland e Jain (1981). Este modelo tem como pressupostos:

1. o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento com todos os genótipos maternos;
2. os alelos de diferentes locos segregam independentemente;
3. não existe efeito de seleção ou mutação sobre os locos entre o tempo de cruzamento e a análise.

A taxa de cruzamento indica se a população reproduz-se por autofecundação ou fecundação cruzada. Os valores de t , quando próximos de 1,0, indicam reprodução por fecundação cruzada.

3.2.3.3.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

De acordo com o modelo do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, foram estimadas as frequências genotípicas esperadas para os homozigotos e heterozigotos a partir das frequências alélicas, considerando-se acasalamentos ao acaso. Para a verificação de aderência das frequências genotípicas ao EHW, foi feito um teste de qui-quadrado entre os números observados de homozigotos e

heterozigotos e aqueles esperados, para cada loco polimórfico, em cada população.

O programa BIOSYS utiliza três métodos para cálculo da significância dos desvios entre as frequências observadas e esperadas: i) teste qui-quadrado (χ^2) não agrupado ou real, em que são analisados todos os genótipos; ii) teste qui-quadrado (χ^2) agrupado, em que são agrupadas classes segundo a frequência do alelo mais comum, como 1º a do número de homozigotos para o alelo mais comum, 2º a do número de heterozigotos entre o alelo mais comum e os raros e 3º a do número de homozigotos raros e outros heterozigotos; iii) teste exato de Fisher.

3.2.3.3.2 Taxa de cruzamento unilocos (\hat{i}_s) e multilocos (\hat{i}_m)

A taxa de cruzamento unilocos e multilocos foi obtida para a população por meio do programa MLTR de Ritland (1990), baseado no modelo de acasalamento misto de Clegg (1980) e Ritland e Jain (1981).

O programa permite estimar \hat{i}_s e \hat{i}_m para a população e para as famílias, bem como as frequências alélicas do óvulo e do pólen, pelo método de máxima verossimilhança. Para estimar o erro padrão das estimativas de cruzamento unilocos e multilocos para a população, o programa utiliza o método “bootstrap”. Nesse método as unidades de amostragem foram as plantas dentro das famílias. Foram utilizadas 1.000 reamostragens dentro das famílias, com base em Vencovsky *et al.* (1997).

Segundo Shaw e Allard (1982), Ritland e El-Kassaby (1985) e Ritland (1990), diferenças positivas entre a taxa multiloco e a uniloco ($\hat{i}_m - \hat{i}_s$) decorrem da existência de acasalamentos entre indivíduos aparentados na população. A diferença entre \hat{i}_m e 1,0 permite obter a proporção de autofecundação (\hat{s}).

3.2.3.4 Estimativa do fluxo gênico (\hat{N}_m)

O fluxo gênico foi obtido com base na metodologia proposta por Crow e Aoki (1984), entre a quantidade de migrantes (\hat{N}_m) e a divergência genética entre populações (\hat{F}_{ST}), em que:

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

sendo,

$$\alpha = \left[\frac{n}{(n-1)} \right]^2$$

em que n é o número de populações.

De acordo com Corkerham e Weir (1993), o emprego de $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado do que \hat{F}_{ST} .

Foi estimado o tamanho da vizinhança (\hat{N}_b), que corresponde ao número médio de indivíduos numa área vizinha ou à área onde ocorre panmixia, para modelos contínuos, com o isolamento por distância dado por:

$$\hat{N}_b = 2\pi \hat{N}_m.$$

3.2.3.5 Estimativa do tamanho efetivo da população (\hat{N}_e)

Para a estimação do tamanho efetivo populacional, foram utilizados os três métodos propostos por Vencovsky (1997) para estas três situações:

i) Estimativa do \hat{N}_e para indivíduos adultos de uma simples população:

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

sendo,

n = número de indivíduos

f = coeficiente de endogamia médio da população

ii) Estimativa do \hat{N}_e para progênes maternas de uma simples população:

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\theta}_F \left(\frac{1+C_f}{m} - \frac{1}{n} \right) + \frac{1+F}{2n}}$$

sendo,

$\hat{\theta}_F$ = coancestria entre indivíduos dentro de progênes, ou divergência genética entre progênes;

m = número de parentais ou de progênes avaliadas;

n = número total de indivíduos avaliados nas progênes ($n = \sum n_i$);

C_f = quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos (n_i) avaliados nas progênes ($i = 1,2,3,\dots,f$);

F = índice de fixação para o conjunto das progênes.

iii) Estimativa do \hat{N}_e para várias populações:

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

sendo:

$\hat{\theta}_p$ = coancestria entre indivíduos dentro de populações, ou divergência genética entre populações;

m = número de populações avaliadas;

n = número total de indivíduos avaliados nas populações ($n = \sum n_i$);

C_p = quadrado do coeficiente de variação de n_i sobre as populações ($i = 1, 2, 3, \dots, m$);

F = índice de fixação para o conjunto das populações.

3.2.3.6 Distribuição espacial dos genótipos

Com o objetivo de analisar a estrutura genética espacial da população da mata do Galego, constituída de 46 indivíduos adultos, foi efetuada a análise espacial dos genótipos por meio da autocorrelação, conforme Sokal e Oden (1978), utilizando-se o programa AUTOCORR. Os indivíduos foram georreferenciados com a utilização de receptores GPS, obtendo-se, então, suas coordenadas UTM. Para a análise foram usados os dados em coordenadas UTM e os dados isoenzimáticos.

A autocorrelação foi efetuada para os locos polimórficos detectados nos indivíduos adultos, segundo a abordagem descrita por Heywood (1991), para detecção da existência de estruturação familiar, isto é, similaridade genética entre indivíduos. Nesta abordagem, para cada alelo, os indivíduos foram caracterizados por frequências alélicas de 0,0; 0,5 ou 1,0, conforme eles carreguem nenhuma, uma ou duas cópias do alelo em seus genótipos, respectivamente. Na análise, foram utilizados os alelos que ocorreram em, pelo menos, seis indivíduos da população, pois os mais raros não proporcionariam nenhuma informação adicional a respeito da estrutura espacial. Para os locos dialélicos, somente um alelo foi analisado, pois o segundo alelo apresenta distribuição dependente do primeiro.

Desse modo, foram analisados doze alelos, a saber: Acp-1 alelos 2 e 3; Acp-2 alelo 1; Est-2 alelos 1 e 3; Po-1 alelos 1 e 3; Po-2 alelos 1 e 3; Po-3 alelos 2 e 3; Po-4 alelo 1.

A caracterização da estrutura espacial foi efetuada pelo índice I de Moran, de acordo com Sokal e Oden (1978), dado pela fórmula, para um alelo:

$$I = \frac{n \sum_{i \neq j} w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{\sum_{i \neq j} w_{ij} \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

sendo:

n = número de indivíduos utilizados na análise;

w_{ij} = pesos utilizados na comparação dos pontos;

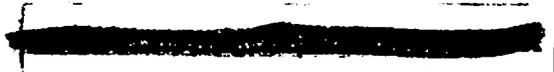
x_i = valor dado ao indivíduo i ($x_i = 1,0; 0,5$ ou $0,0$);

x_j = valor dado ao indivíduo j ($x_j = 1,0; 0,5$ ou $0,0$);

\bar{x} = valor médio dado aos indivíduos analisados.

O índice I de Moran pode assumir valor entre -1 e +1, sendo que -1 significa que os indivíduos pareados são completamente diferentes e o valor +1, significa que os indivíduos pareados são idênticos. O valor zero significa ausência de autocorrelação, isto é, os indivíduos estão distribuídos no espaço de forma aleatória.

Foram utilizados três métodos diferentes de autocorrelação para a análise da distribuição espacial dos genótipos de *Cedrela fissilis*: conexão de Gabriel, vizinho mais próximo e comparações dentro de classes de distâncias preestabelecidas. A conexão de Gabriel compara dois indivíduos A e B, que recebem peso 1 se nenhum indivíduo ocorrer sobre ou dentro do círculo cujo diâmetro é o segmento da reta AB (Sokal e Oden, 1978). Na análise do vizinho mais próximo, pares de indivíduos adjacentes recebem peso de $w = 1$ e todos os demais pares, valor $w = 0$ (Sokal e Oden, 1978). Na análise por classes de distâncias, todos os pares de indivíduos comparados, que apresentam a distância



entre si incluída em um intervalo preestabelecido, recebem peso 1 e as demais comparações recebem valor zero. Conforme feito por Gandara (1996), as classes de distância foram especificadas de modo que cada uma apresentasse, no mínimo, 30 conexões. Portanto, foram estabelecidas nove classes de distância entre indivíduos: 0 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 50 a 60, 60 a 70, 70 a 100, 100 a 550 m.

Diniz Filho (1998) afirma que os diversos índices I de Moran em um correlograma não são independentes entre si. É possível encontrar um ou mais índices I significativos a 5%, o que não significa que o correlograma como um todo também o seja, indicando efetivamente um padrão espacial. Então, para o estabelecimento da significância do correlograma como um todo a um determinado α (5%, por exemplo), é necessário utilizar o critério de Bonferroni (Oden, 1984; Sokal e Rohlf, 1981) e testar a significância de cada um dos índices I de Moran a um nível de α/k , em que k é o número de classes de distância. O teste Z foi usado para verificar se os valores de I foram significativamente diferentes de zero (teste z). Neste trabalho, sendo definidas 9 classes de distância, cada valor I de Moran foi testado a 0,0056 (0,05/9) e 0,0011 (0,01/9), a 5% e 1%, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Levantamento das populações naturais de *Cedrela fissilis*

Foram levantados, na Mata do Galego com 77 ha, 47 indivíduos, sendo 19 adultos (reprodutivos); na Mata da Lagoa, com 3,99 ha, 5 indivíduos adultos; e na Mata do Capivari, com 9,78 ha, 14 indivíduos, sendo 8 adultos. A densidade de indivíduos adultos de *Cedrela fissilis* encontrada foi de 0,25, 1,25 e 0,82/ha nas matas do Galego, do Capivari e da Lagoa, respectivamente. Além dos indivíduos levantados, foram também analisadas sete famílias da Mata do Galego, duas da Mata do Capivari e duas da Mata da Lagoa.

4.2 Sistemas enzimáticos

Foram testados 21 sistemas enzimáticos, dos quais apenas cinco foram escolhidos para as análises, por apresentarem locos passíveis de interpretação. Os sistemas utilizados foram: ADH, ACP, β -EST, GTDH e PO. Na Figura 5 estão representados, em esquema, os locos e alelos identificados nos géis e a Figura 6 ilustra um dos sistemas enzimáticos analisados.

Para *Cedrela fissilis* Vell. as características apresentadas para cada sistema enzimático foram:

Álcool desidrogenase (ADH)

Esse sistema revelou-se somente nas progênes que apresentaram dois locos. O loco 1 apresentou-se polimórfico, com quatro alelos, sendo que o alelo 4 foi exclusivo das famílias da Mata da Lagoa. O segundo loco apresentou-se monomórfico, com dois alelos. Apesar de a literatura indicar que a estrutura da enzima é dimérica, nesse trabalho ela foi encontrada com estrutura monomérica.

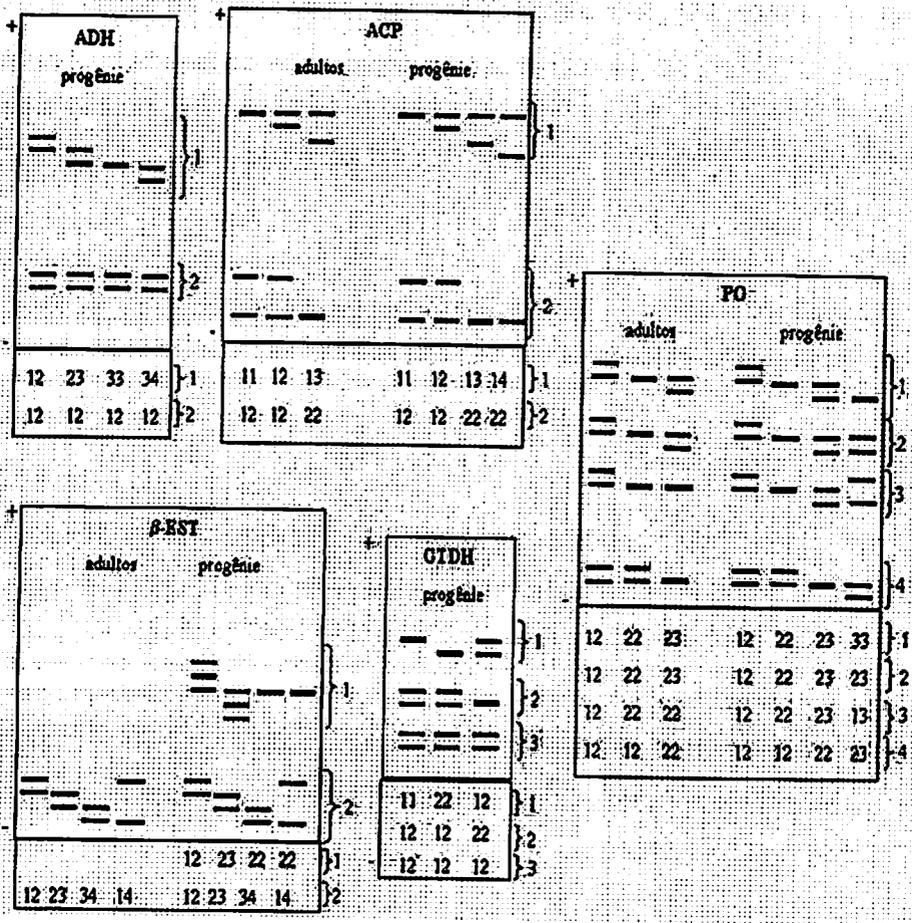


FIGURA 5. Padrões enzimáticos e seus respectivos locos para cinco sistemas enzimáticos analisados para *Cedrela fissilis* Vell

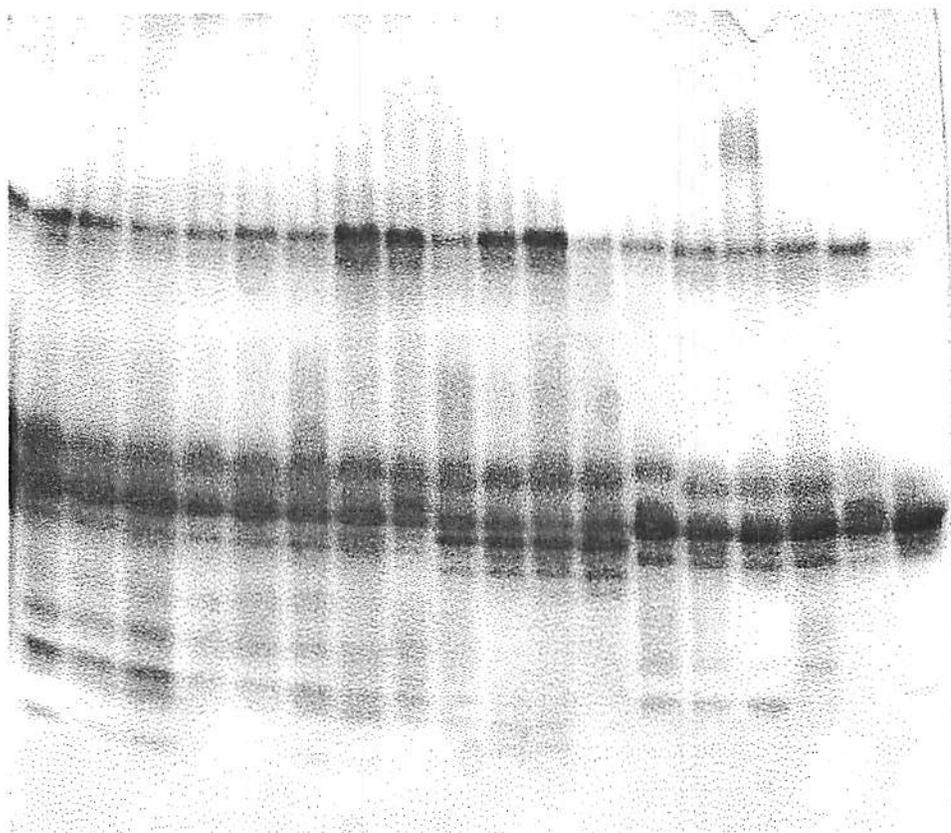


FIGURA 6. Foto ilustrativa de um gel revelado para o sistema enzimático peroxidase

Fosfatase ácida (ACP)

Esse sistema revelou-se nas populações e também nas famílias, apresentando dois locos, ambos polimórficos. O loco 1 apresentou quatro alelos sendo o alelo 4 encontrado somente em uma das famílias da Mata do Galego. O loco 2 apresentou dois alelos. A enzima possui estrutura monomérica e dimérica, sendo que neste trabalho esta apresentou-se monomérica.

β -esterase (EST)

Esse sistema revelou dois locos polimórficos, sendo apenas um encontrado nas populações. O loco 1, revelado somente nas progênes, apresentou três alelos; o alelo 1 foi encontrado somente em uma das famílias da Mata do Capivari e o alelo 3 em uma das famílias da Mata do Galego e nas duas famílias da Mata da Lagoa. O loco 2 apresentou quatro alelos, dentre os quais somente o alelo 1 foi encontrado na população da Mata do Capivari e nas famílias da Mata da Lagoa. A enzima apresentou estrutura monomérica.

Glutamato desidrogenase (GTDH)

Esse sistema revelou-se somente nas progênes, apresentando três locos. Os locos 1 e 2 apresentaram-se polimórficos com dois alelos, enquanto que o loco 3, também com dois alelos, apresentou-se monomórfico. Somente nas famílias da Mata da Lagoa, o loco 2 apresentou-se monomórfico. A literatura indica que a enzima apresenta seis subunidades, sendo, neste trabalho, encontrada estrutura monomérica para a mesma.

Peroxidase (PO)

Esse sistema apresentou grande número de regiões de atividade, sendo que, destas, apenas quatro apresentaram-se constantes. Os quatro locos identificados apresentaram-se polimórficos com três alelos em cada. Nas famílias da Mata do Capivari, o alelo 2 dos loco 1 e 3 apresentaram-se fixados. Também apresentou-se fixado o alelo 2 do loco 4 nas famílias e na população da Mata da Lagoa, não tendo sido encontrado o alelo 3 do loco 2 nas mesmas. A população da Mata do Galego não apresentou o alelo 3 do loco 4. A enzima apresentou estrutura monomérica.

4.3 Caracterização da variação genética

4.3.1 Frequências alélicas

Para a estimativa da variabilidade genética por meio dos parâmetros isoenzimáticos, são apresentadas, na Tabela 3, as frequências de 37 alelos de sete locos nas três populações de *Cedrela fissilis* e de treze locos em suas respectivas progênes.

Na Mata do Galego, os locos Est-1, Po-3 (0,99) e Po-4 (0,95) apresentaram-se monomórficos nas progênes, não sendo observados locos monomórficos na população. Na Mata do Capivari, apresentaram-se monomórficos Est-1 (0,95), Po-4 (0,95), Po-3 (0,99) e Po-1 (0,99) nas progênes, não sendo observados locos monomórficos na população. A população da Mata da Lagoa apresentou os locos Po-3 (0,95) e Po-4 (0,99) monomórficos, e nas progênes estes foram os locos Gtdh-1 (0,95) e Po-4 (0,99).

Houve uma grande variação nas frequências alélicas nos indivíduos analisados, que foi desde a fixação de alelos até frequências muito baixas. Apresentaram-se fixados os alelos 2 do loco Po-4 na progênie da Mata da Lagoa; o alelo 2 do loco Po-3 na progênie da Mata do Capivari e alelo 2 do loco Po-1 na progênie da Mata do Capivari.

Nos indivíduos adultos da população da mata do Galego foram encontradas baixas frequências para o alelo 3 do loco Acp-1 (0,056), alelo 1 do loco Est-2 (0,070), alelo 1 do loco Po-1 (0,085), alelos 1 e 2 do loco Po-2, (0,096 e 0,021) e alelo 3 do loco Po-3 (0,065). Na mata do Capivari, o alelo 3 do loco Acp-1 (0,077), alelo 1 do loco Est-2 (0,042) alelo 3 do loco Po-2 (0,036), alelo 1 do loco Po-3 (0,036) e alelo 1 do loco Po-4 (0,071) apresentaram baixa frequência. Não foram encontrados alelos em baixa frequência nos adultos da Mata da Lagoa.

TABELA 3. Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) nos adultos e nas progênies de três populações naturais de *Cedrela fissilis* Vell.

Locos	Alelos	Populações					
		Galego		Capivari		Lagoa	
		Adultos	Progênies	Adultos	Progênies	Adultos	Progênies
Adh-1	1	-	0,099	-	0,000	-	0,013
	2	-	0,821	-	0,893	-	0,711
	3	-	0,080	-	0,107	-	0,237
	4	-	0,000	-	0,000	-	0,039
	n	-	137	-	28	-	38
Adh-2	1	-	0,500	-	0,500	-	0,500
	2	-	0,500	-	0,500	-	0,500
	n	-	139	-	33	-	39
Acp-1	1	0,644	0,529	0,500	0,446	0,500	0,684
	2	0,300	0,292	0,423	0,482	0,500	0,263
	3	0,056	0,154	0,077	0,071	0,000	0,053
	4	0,000	0,025	0,000	0,000	0,000	0,000
	n	45	120	13	28	4	38
Acp-2	1	0,133	0,395	0,192	0,431	0,500	0,368
	2	0,867	0,605	0,808	0,569	0,500	0,632
	n	45	133	13	29	5	38
Est-1	1	-	0,000	-	0,019	-	0,000
	2	-	0,996	-	0,981	-	0,936
	3	-	0,004	-	0,000	-	0,064
	n	-	135	-	27	-	39
Est-2	1	0,070	0,004	0,042	0,000	0,000	0,054
	2	0,500	0,218	0,500	0,300	0,500	0,446
	3	0,430	0,774	0,458	0,700	0,500	0,466
	4	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,054
	n	43	126	12	30	5	37
Gtdh-1	1	-	0,830	-	0,857	-	0,971
	2	-	0,170	-	0,143	-	0,029
	n	-	135	-	28	-	34
Gtdh-2	1	-	0,429	-	0,469	-	0,500
	2	-	0,571	-	0,531	-	0,500
	n	-	133	-	32	-	39
Gtdh-3	1	-	0,500	-	0,500	-	0,500
	2	-	0,500	-	0,500	-	0,500
	n	-	139	-	33	-	39
Po-1	1	0,085	0,094	0,308	0,000	0,400	0,013
	2	0,649	0,793	0,615	1,000	0,600	0,615
	3	0,266	0,112	0,077	0,000	0,000	0,372
	n	47	138	14	33	5	39

“...continua...”

“Tabela 3. Cont.”

Po-2	1	0,096	0,109	0,286	0,015	0,100	0,077
	2	0,883	0,888	0,679	0,833	0,900	0,923
	3	0,021	0,004	0,036	0,152	0,000	0,000
	n	47	138	14	33	5	39
Po-3	1	0,141	0,000	0,036	0,000	0,000	0,462
	2	0,793	1,000	0,821	1,000	1,000	0,500
	3	0,065	0,000	0,143	0,000	0,000	0,038
	n	46	138	14	33	5	39
Po-4	1	0,106	0,007	0,071	0,030	0,000	0,000
	2	0,894	0,985	0,929	0,955	1,000	1,000
	3	0,000	0,007	0,000	0,015	0,000	0,000
	n	47	137	14	33	5	39
Total	n	47	139	14	33	5	39

Nas progênies da Mata do Galego, os alelos que apresentaram baixa frequência foram os alelos 1 e 3 do loco Adh-1 (0,099 e 0,080), o alelo 4 do loco Acp-1 (0,025), alelos 1 e 4 do loco Acp-2 (ambos 0,004), alelo 1 do loco Po-1 (0,094), alelo 3 do loco Po-2 (0,004) e alelos 1 e 3 do loco Po-4 (ambos 0,007). Nas progênies da Mata do Galego baixas frequências foram encontradas para o alelo 3 do loco Acp-1 (0,071), alelo 1 do loco Est-1 (0,019), alelo 1 do loco Po-2 (0,015) e alelo 3 do loco Po-4 (0,015). Na progênie da Mata da Lagoa, o alelo 1 e 3 do loco Adh-1 (0,013 e 0,039), o alelo 3 do loco Acp-1 (0,053), os alelos 1 e 4 do loco Est-2 (ambos 0,054), alelo 2 do loco Gtdh-1 (0,029), alelo 1 do loco Po-1 (0,013), alelo 1 do loco Po-2 (0,077) e alelo 3 do loco Po-3 (0,038) apresentaram baixa frequência.

Oscilações nas frequências alélicas, variando da perda à fixação de alelos, podem ser indicativo de deriva genética ou seleção. As oscilações desenvolvem-se por meio de processos aleatórios, quando não existem mecanismos de seleção natural.

Estas oscilações podem também ser devido à migração, que altera as frequências alélicas na população pela introdução de alelos advindos de outras populações. A migração de alelos pôde ser evidenciada pela presença de alelos

incomuns a uma das populações analisadas e presente em algumas de suas progênes e nas demais populações. Este fato foi observado para o alelo 3 do loco Po-1 e alelo 3 do loco Po-3, que estiveram ausentes nos adultos da Mata da Lagoa, sendo encontrados nos demais adultos e progênes analisados.

Um fato observado pela análise das frequências alélicas foi o de que alguns locos em heterozigose nos indivíduos apresentaram-se homozigotos nas progênes para uma dada população. Isso foi observado na população da Mata do Capivari, onde os locos Po-1 e Po-3 apresentaram três alelos nos adultos e apenas um em sua progênie. Este fato também foi observado no loco Po-3 para os indivíduos da mata do Galego. Sugere-se que isto seja devido à seleção ou a erros amostrais, já que não foi possível a coleta de grande número de sementes, o que poderia estar gerando estes dados contraditórios.

Foram observados alelos exclusivos às progênes, a saber: alelo 4 do loco Acp-1, exclusivo à progênie da Mata do Galego; alelo 4 do loco Est-2, encontrado nas progênes da Mata do Galego e da Lagoa; alelo 3 do loco Po-4, encontrado nas progênes da Mata do Galego e do Capivari e o alelo 4 do loco Adh-1, exclusivo à progênie da Mata da Lagoa.

A presença de alelos exclusivos às progênes demonstram a presença de fluxo gênico entre as populações analisadas e outras populações de *Cedrela fissilis*, já que foram amostrados todos os indivíduos adultos nos fragmentos estudados. A presença de alelos exclusivos às progênes já foi detectada em *Myracrodruon urundeva* (Lacerda, 1997), *Prosopis juliflora* (Oliveira, 1999) e *Machaerium villusum* (Giudice Neto, 1999).

Os dados de frequência alélica apontam para alta frequência de um dos alelos, ou mesmo uma possível fixação destes, nos locos do sistema enzimático peroxidase (PO) e nos locos Adh-1 e Gtdh-1 em todas as populações e progênes. Excetuando-se também o loco Po-3 na Mata da Lagoa, para os demais locos foi observada tendência de aumento na heterozigosidade em

indivíduos adultos, o que já foi observado em trabalhos de Hamrick, Murawski e Nason, (1993) com *Brosimum alicastrum*, *Platypodium elegans* e *Swartia simplex* var. *ochraceae*; Alvarez-Buylla e Garay (1994) com *Cecropia obtusifolia*; Gandara (1996) com *Cedrela fissilis*; Lepsh-Cunha (1996) com *Couratari guianensis* e *C. multiflora* e de Souza (1997) com *Chorisia speciosa*.

Souza (1997) concluiu que, para *Chorisia speciosa*, os parâmetros comumente utilizados para a caracterização da variabilidade genética (Ho, He, P e A) muitas vezes não conseguem mostrar perda de alelos, não sendo bons indicadores de deriva genética. E indicada, então, a análise direta dos dados de frequência alélica. Alguns trabalhos posteriores ao acima citado têm se utilizado desta análise para melhor discussão de seus dados (Oliveira, 2000).

Portanto, a análise direta das frequências alélicas sugere que não há diferenças substanciais entre as populações de cada fragmento florestal, indicando baixa divergência entre as mesmas.

4.3.2 Índices de diversidade genética

Os parâmetros estimados a partir das frequências alélicas de treze locos isoenzimáticos para avaliar a variabilidade genética estão apresentados na Tabela 4.

Para os treze locos analisados, a porcentagem de locos polimórficos (*P*) encontrada nos adultos, a 0,99 de probabilidade, foi de 53,85% na Mata do Galego e Capivari e de 38,46% na Mata da Lagoa. Nas progênies, a porcentagem de locos polimórficos foi de 76,92% na Mata do Galego, 69,23% na mata do Capivari e 84,62% na Mata da Lagoa. Quanto ao número de alelos por loco, este variou de 1,8 a 2,7 nas populações onde valores intermediários a estes foram observados nas progênies. A porcentagem de locos polimórficos média para os indivíduos adultos foi de 48,72% e nas progênies foi de 76,92%.

Valores de P foram encontrados de 77% para espécies comuns e 42% para raras por Hamrick e Murawski (1991); de 76,9% em adultos e 84,6% na progênie de uma população de *Cedrela fissilis* por Gandara (1996); de 50% em ambos, adultos e progênes, de uma população de *Aspidosperma polyneurum* por Maltez (1997); de 12,5 e 20% em adultos e 8,3 e 16,7% nas progênes de duas populações de *Myracrodruon urundeva* por Lacerda (1997); de 85% em adultos, de 55% em jovens e 75% progênes de *Cryptocaria moschata* por Moraes (1997); de 77% em adultos de *Chorisia speciosa* por Souza (1997) e de 42,86% em adultos, jovens e progênie de uma população de *Calophyllum brasiliense*, por Kawaguici e Kageyama (2001).

Os valores encontrados para porcentagem de locos polimórficos estão coerentes com os encontrados em espécies raras, em torno de 42%, como anteriormente citado. No entanto, está abaixo do encontrado em algumas espécies raras estudadas, como *Chorisia speciosa* (Souza, 1997) e, mesmo, em *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996).

As progênes apresentaram consideravelmente maior variabilidade quando comparadas aos adultos, fato este esperado e já evidenciado para a espécie por Gandara (1996). Grande parte das espécies raras, entre elas a *C. fissilis*, é classificada como secundárias tardias no processo sucessional (Gandara *et al.*, 1997). Isto porque as plântulas originadas no evento reprodutivo necessitam de pequenas clareiras para desenvolverem-se. Sendo estocástico o evento de criação de clareira em florestas primárias e havendo forte competição entre plântulas na clareira formada, grande parte das plântulas geradas não se estabelecerão como adultos. Neste processo, pode também haver seleção de indivíduos, o que, da mesma forma, acarretaria em redução da variabilidade.

A heterozigiosidade média esperada nas populações de *Cedrela fissilis* (H_e) variou de 0,298 para as famílias da Mata do Capivari a 0,419 para a população do mesmo fragmento. As famílias apresentaram menor

heterozigosidade genética em relação às populações. Exceção é feita à Mata da Lagoa, onde a progênie apresentou heterozigosidade maior do que a população. Esse fato é devido à presença de maior número de alelos nos locos para a progênie, alelos estes adquiridos pelo fluxo gênico advindo de outras populações. A existência de remanescentes florestais próximo aos fragmentos estudados indica que estes podem estar atuando neste fluxo gênico.

Gandara (1996), estudando uma população de *Cedrela fissilis* na Mata Atlântica em São Paulo, encontrou valor de heterozigosidade igual a 0,222. Outras espécies de Meliaceae estudadas quanto à diversidade genética por isoenzimas, *Carapa Guianensis* (Hall et al., 1994) e *Trichilia tuberculata* (Hamrick e Loveless, 1986) apresentaram valores de diversidade iguais a 0,120 e 0,089, respectivamente.

TABELA 4. Variabilidade genética de três populações naturais de *Cedrela fissilis* com base em treze locos e cinco sistemas enzimáticos

	Populações					
	Galego		Capivari		Lagoa	
	Adultos	Progênies	Adultos	Progênies	Adultos	Progênies
Número médio de alelos por loco	2,71 (0,488)	2,54 (0,877)	2,71 (0,488)	2,08 (0,641)	1,86 (0,690)	2,46 (0,887)
Porcentagem de locos polimórficos (0,95)	53,85	84,62	53,85	84,62	38,46	92,31
Porcentagem de locos polimórficos (0,99)	53,85	76,92	53,85	69,23	38,46	84,62
Heterozigosidade média observada (H_o)	0,420 (0,298)	0,394 (0,382)	0,398 (0,288)	0,349 (0,410)	0,457 (0,513)	0,524 (0,416)
Heterozigosidade média esperada (H_e)	0,366 (0,157)	0,317 (0,206)	0,419 (0,160)	0,298 (0,217)	0,356 (0,281)	0,374 (0,210)
Índice de fixação (f)	-0,151 [-0,5 a 0,2]	-0,400 [-0,7 a 0,01]	0,056 [-0,5 a 0,3]	-0,209 [-0,6 a 0,3]	-0,420 [-1 a 1]	-0,520 [-0,77 a 0,2]
Tamanho da amostra (n)	47	135	14	33	5	39

Os números entre parênteses referem-se aos desvios padrões e, entre colchetes, os intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade.

Giudice Neto (1999), estudando duas populações de *Machaerium villosum*, indicou ser esperada maior heteroziguidade nas progênies, já que estas normalmente apresentam alelos exclusivos. No presente trabalho foram verificados quatro alelos exclusivos às progênies. No entanto, a presença destes não foi suficiente para a elevação dos níveis de heteroziguidade, de forma a ultrapassar os níveis de heteroziguidade encontrada nos adultos.

Hamrick e Godt (1990) revisaram 653 estudos de diversidade genética fornecidos por marcador isoenzimático, em 449 espécies e encontraram uma heteroziguidade média populacional de 0,160 para Gimnospermas, de 0,149 para espécies de ampla distribuição, de 0,109 para espécies tropicais, de 0,124 para espécies de polinização por animais e de 0,123 para espécies polinizadas por vento.

Observa-se que a heteroziguidade média encontrada nas populações de *Cedrela fissilis* estudadas é muito elevada quando comparadas a outras espécies vegetais. Valores de diversidade genética próximos aos encontrados foram observados por Oliveira (2000) em *Copaiifera langsdorffii* ($H_e=0,366$) e por Moraes (1997) com *Cryptocaria moschata* ($H_e=0,351$). Valores mais elevados foram observados por Santos (1994) com *Bauhinia forficata* ($H_e=0,451$) e por Reis (1996) com *Euterpe edulis* ($H_e=0,452$).

Hamrick e Murawski (1991), comparando a heteroziguidade em 16 espécies arbóreas raras e em 16 comuns, encontraram valores significativamente menores para as raras. Os mesmos consideraram que os baixos níveis de diversidade genética observados para espécies raras devem estar relacionados aos seus pequenos tamanhos efetivos populacionais.

No entanto, os resultados obtidos neste trabalho reforçam a tese de Gitzendanner e Soltis (2000) de que ambos os grupos de espécies raras e comuns não apresentem um padrão de variabilidade genética. Portanto, não se pode ter

como regra a afirmação de que espécies raras apresentem menor diversidade do que espécies comuns.

A heterozigiosidade média observada foi geralmente menor do que a esperada, exceção feita para os adultos e a população da Mata do Capivari, que apresentaram heterozigiosidade esperada menor do que a observada.

O índice de fixação (\hat{f}) mostrou-se bastante variável nos adultos, variando de -0,420 a 0,056, variando também nas progênes de -0,520 a -0,209. Índice de fixação positivo somente foi observado nos adultos da Mata do Capivari, indicativo de endogamia. Nas demais populações e nas progênes, os índices negativos encontrados indicaram, *a priori*, ausência de endogamia. Foram observados \hat{f} maiores em adultos em relação às progênes.

Valores de \hat{f} mais altos em adultos e menores em progênes, como os encontrados, indicam aumento da endogamia da progênie para os adultos, o que é contrastante com outros trabalhos de espécies arbóreas tropicais, que indicam seleção em favor dos heterozigotos. Valores de \hat{f} menores ou negativos nos adultos em relação às progênes, indicativo de seleção em favor de heterozigotos, foram observados em *Pithecellobium pedicellare* (O'Maley e Bawa, 1987), *Beichmedia pendula* (Murawski e Hamrick, 1991), *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte *et al.*, 1992), *Shorea magistophyla* (Murawski *et al.*, 1994), *Cryptocaria moschata* (Moraes, 1997), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), dentre outras.

Tendência semelhante à encontrada nestas populações de *Cedrela fissilis* já foi observada em *Trichilia tuberculata* (Murawski e Hamrick, 1991), *Couratari guianensis* e *C. multiflora* (Lepsh-Cunha, 1996) e em *Calophyllum brasiliensis* (Kawaguici e Kageyama, 2001).

O indício de aumento da endogamia das progênes para os adultos não pode ser afirmado já que o índice de fixação, apesar de negativo, não foi

significativo nas populações estudadas. No entanto, o fato acima apontado poderia ser explicado, neste caso, pela deriva genética. A espécie *Cedrela fissilis* é classificada como secundária tardia no que se refere ao processo sucessional, isto é, seu estabelecimento se dá em pequenas clareiras. Sendo estocásticos os processos de ocorrência de clareiras, a alta competição quando da ocorrência de um evento promoveria a eliminação de grande quantidade de indivíduos e, conseqüentemente, alelos. Este evento poderia gerar, então, um aumento na endogamia das plântulas para as classes superiores.

4.4 Estrutura genética

Na Tabela 5 encontram-se os coeficientes de coancestralidade do Cockerham para as três populações de *C. fissilis* e suas progênes, em que \hat{f} é o coeficiente de endogamia média dentro das populações, \hat{F} é a endogamia para o conjunto das populações, $\hat{\theta}_p$ é a divergência genética entre populações e $\hat{\theta}_f$ é a divergência genética entre famílias dentro de progênes. Os três primeiros parâmetros são correspondentes às estimativas \hat{F}_{IS} , \hat{F}_{IT} e \hat{F}_{ST} de Wright.

As estimativas obtidas para as populações indicam baixa endogamia para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0,092$) e alta dentro das populações ($\hat{f} = -0,126$), porém não significativas. Para as progênes, estes parâmetros indicaram alta endogamia para famílias dentro de população, com $\hat{F} = -0,219$, $-0,141$ e $-0,317$ e, dentro das famílias, em que $\hat{f} = -0,401$, $-0,209$ e $-0,520$ para as progênes da Mata do Galego, Capivari e Lagoa, respectivamente. A julgar pelo intervalo de confiança, somente é significativa a endogamia presente dentro das famílias da mata do Galego. Analisando-se o conjunto das progênes, foram encontrados níveis semelhantes aos das famílias de cada população, em que $\hat{F} =$

-0,213 e $\hat{f} = -0,340$, indicando haver excesso de heterozigotos nas progênies, porém, não sendo significativa a endogamia presente dentro das famílias nos fragmentos.

TABELA 5. Coeficientes de coancestralidade entre populações de *Cedrela fissilis* e suas respectivas progênies. (Os intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade se encontram entre colchetes).

	locos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	$\hat{\theta}_P$
Populações	Acp-1	0,349	0,359	-	0,015
	Acp-2	-0,259	-0,188	-	0,057
	Est-2	-0,840	-0,851	-	-0,006
	Po-1	-0,025	0,049	-	0,072
	Po-2	-0,007	0,076	-	0,083
	Po-3	0,172	0,179	-	0,008
	Po-4	-0,106	-0,123	-	-0,015
	média	-0,126	-0,092		0,030
		[-0,499 a 0,192]	[-0,477 a 0,212]		[0,004 a 0,059]
Progênies da Mata do Galego	Adh-1	-0,093	0,055	0,135	-
	Adh-2	-1,000	-1,000	0,000	-
	Acp-1	0,364	0,529	0,260	-
	Acp-2	-0,696	-0,643	0,031	-
	Est-1	0,001	-0,0001	-0,001	-
	Est-2	-0,167	0,040	0,177	-
	Gtdh-1	0,859	0,900	0,291	-
	Gtdh-2	-0,779	0,744	0,020	-
	Gtdh-3	-1,000	-1,000	0,000	-
	Po-1	0,063	0,368	0,326	-
	Po-2	-0,339	-0,090	0,1866	-
	Po-3	-	-	-	-
	Po-4	-0,001	-0,009	-0,0086	-
	média	-0,401	-0,220	0,129	
		[-0,720 a 0,009]	[-0,623 a 0,216]	[0,051 a 0,214]	

“...continua...”

"Tabela 5. Cont."

	locos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	$\hat{\theta}_P$
Progênies da Mata do Capivari	Adh-1	1,000	1,000	0,186	-
	Adh-2	-1,000	-1,000	0,000	-
	Acp-1	0,471	0,535	0,121	-
	Acp-2	-0,515	-0,417	0,064	-
	Est-1	-0,005	0,005	0,010	-
	Est-2	-0,083	-0,105	-0,021	-
	Gtdh-1	1,000	1,000	0,035	-
	Gtdh-2	-0,749	-0,751	-0,001	-
	Gtdh-3	-1,000	-1,000	0,000	-
	Po-1	-	-	-	-
	Po-1	0,761	0,814	0,221	-
	Po-3	-	-	-	-
	Po-4	-0,038	-0,006	0,0313	-
	média	-0,209	-0,142	0,056	
	[-0,619 a 0,299]	[-0,583 a 0,363]	[0,012 a 0,108]		
Progênies da Mata da Lagoa	Adh-1	-0,320	0,175	0,375	-
	Adh-2	-1,000	-1,000	0,000	-
	Acp-1	0,074	0,119	0,048	-
	Acp-2	-0,713	-0,462	0,147	-
	Est-1	-0,067	-0,045	0,021	-
	Est-2	-0,702	-0,638	0,038	-
	Gtdh-1	1,000	1,000	0,026	-
	Gtdh-2	-1,000	-1,000	0,000	-
	Gtdh-3	-1,000	-1,000	0,000	-
	Po-1	0,670	0,847	0,536	-
	Po-1	-0,096	-0,047	0,044	-
	Po-3	-0,520	-0,525	-0,003	-
	Po-4	-	-	-	-
	média	-0,520	-0,317	0,134	
	[-0,768 a -0,20]	[-0,690 a 0,098]	[0,019 a 0,027]		

"...continua..."

"Tabela 5. Cont."

	locos	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	$\hat{\theta}_P$
	Adh-1	-0,048	0,0139	0,178	-
	Adh-2	-1,0008	-1,000	0,000	-
	Acp-1	0,3258	0,461	0,201	-
	Acp-2	-0,6728	-0,604	0,041	-
	Est-1	-0,048	-0,010	0,0361	-
Progênie das diferentes populações	Est-2	-0,313	-0,114	0,1511	-
	Gtdh-1	0,893	0,919	0,244	-
	Gtdh-2	-0,818	-0,790	0,015	-
	Gtdh-3	-1,000	-1,000	0,000	-
	Po-1	0,224	0,524	0,388	-
	Po-1	-0,056	0,118	0,165	-
	Po-3	-0,520	0,138	0,433	-
	Po-4	-0,018	-0,010	0,002	-
	média	-0,340	-0,214	0,013	
		[-0,71 a -0,014]	[-0,586 a 0,194]	[0,064 a 0,215]	

O coeficiente $\hat{\theta}_P$ mostrou haver divergência genética entre populações (2,97%), sendo esta, no entanto, baixa, indicando que a variabilidade genética se concentra dentro de populações. Entre progênie, os níveis de divergência genética entre indivíduos dentro de progênie ($\hat{\theta}_F$) foram de 12,9%, 5,60% e 13,4% para as progênie da Mata do Galego, Capivari e Lagoa, respectivamente, indicando haver divergência significativa entre as famílias destas populações. Tomando-se as progênie como um todo, a divergência encontrada entre as famílias foi de 1,33%, sendo também significativa.

Na análise da distribuição da variação genética intrapopulacional de progênie é esperado que progênie de meio-irmãos apresentem valor de $\hat{\theta}_F$ de pelo menos 0,125; em progênie de irmãos completos de 0,250 e em progênie de autofecundação (geração S_1) seja pelo menos 0,5. Assim, para os valores encontrados, pode-se dizer que as progênie são compostas, quase que

exclusivamente, de meios-irmãos, o que indica que os cruzamentos foram, quase na totalidade, ao acaso.

A ausência de endogamia observada para o conjunto das populações, apesar de haver divergência significativa entre estas, sugere que as populações são integrantes de uma população panmítica, onde não há efeitos de deriva genética e os cruzamentos ocorrem ao acaso, sendo esperadas, portanto, proporções genóticas em EHW. Este fato não é esperado ocorrer nas progênes já que a endogamia encontrada foi alta, apesar de ser significativa apenas para as famílias da Mata da Lagoa, indicando desvios significativos das frequências genóticas em relação às esperadas pelo EHW.

4.5 Sistema reprodutivo

4.5.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O EHW tem como premissas cruzamento aleatórios, ausência de mutação, migração, deriva genética, seleção e tamanho infinito das populações (Metter e Creg, 1973; Futuyma, 1992). Sob estas premissas, é esperado que uma população panmítica mantenha inalteradas as frequências de seus alelos a cada geração.

O teste só pode ser verificado quando se trabalha com mais de uma geração. Quando apenas uma geração é estudada, pode-se apenas verificar o ajuste das proporções genóticas ao modelo de EHW. Pressupondo-se cruzamentos aleatórios, pode-se abordar o sistema reprodutivo das espécies pela avaliação da existência de EHW nas populações (Reis, 1996).

Quando o número de genótipos esperados (ne) é inferior a 1,00 na análise convencional do teste de qui-quadrado (X^2), o teste exato de Fisher deve ser priorizado. Este teste é geralmente usado quando se tem tamanhos amostrais pequenos, onde há maior chance de se ter números esperados pequenos,

podendo ser aplicado a amostras maiores quando a existência de alelos raros leva também a números esperados pequenos (Weir, 1996). Segundo Gomes (1990), o teste X^2 não deve ser usado quando a frequência esperada mínima for <1 e quando não mais de 20% das frequências esperadas forem <5 , pois o valor X^2 resultante será viesado e não podendo ser legitimamente comparado com os valores na tabela de distribuição (Zar, 1994).

Utilizando o teste de P de Fisher para as expectativas do Equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada loco polimórfico, verificaram-se desvios da panmixia nas populações e nas progênes estudadas (Tabela 6).

TABELA 6. Probabilidade do teste exato de Fisher para a hipótese do equilíbrio de Hardy-Weinberg, para três populações de *Cedrela fissilis* Vell. e suas respectivas progênes.

Loco	P (Fisher)					
	Adultos			Progênes		
	Galego	Capivari	Lagoa	Galego	Capivari	Lagoa
Adh1	---	---	---	1,000 ^{ns}	0,000 ^{**}	0,691 ^{ns}
Adh2	---	---	---	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}
Acp1	0,001 ^{**}	0,578 ^{ns}	0,314 ^{ns}	0,000 ^{**}	0,009 ^{**}	1,000 ^{ns}
Acp2	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}	0,127 ^{ns}	0,000 ^{**}	0,022 [*]	0,000 ^{**}
Est1	---	---	---	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}
Est2	0,000 ^{**}	0,002 ^{**}	0,127 ^{ns}	0,799 ^{ns}	0,687 ^{ns}	0,000 ^{**}
Gtdh1	---	---	---	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}	0,015 [*]
Gtdh2	---	---	---	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}
Gtdh3	---	---	---	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}	0,000 ^{**}
Po1	0,003 ^{**}	0,019 [*]	0,048 [*]	0,000 ^{**}	---	0,000 ^{**}
Po2	1,000 ^{ns}	0,555 ^{ns}	1,000 ^{ns}	0,218 ^{ns}	0,000 ^{**}	1,000 ^{ns}
Po3	0,012 ^{**}	1,000 ^{ns}	---	---	---	0,004 ^{**}
Po4	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}	---	1,000 ^{ns}	1,000 ^{ns}	---

* P<0,05 **P<0,01 ns = não significativo

O teste exato de Fisher detectou desvios significativos do modelo de equilíbrio em 57,1%, 28,6% e 20,0%, na população e 58,3%, 72,3% e 63,6% nas progênes das Matas do Galego, Capivari e Lagoa, respectivamente. Desvios

significativos ao modelo de EHW foram encontrados para os locos Acp-1, Est-2, Po-1 e Po-3 na população da Mata do Galego. Para a população da Mata do Capivari estes foram Est-2 e Po-1. O loco Po-1 apresentou desvio significativo nas três populações avaliadas.

Nas progênes, a maioria dos locos avaliados apresentou desvio significativo ao equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para a progênie da Mata do Galego, todos os locos apresentaram desvio significativo, exceto os locos Est-1, Est-2, Po-1 e Po-4. Estes locos foram Est-1, Est-2 e Po-4 na progênie da Mata do Capivari e Adh-1, Est1, Acp-1 e Po-2 na Mata da Lagoa.

A grande porcentagem de locos fora do EHW encontrada pode ser explicada pelo índice de excesso de heterozigotos em ambos adultos e progênes, como indicado pelo índice de fixação, apesar deste não ter sido significativo.

Gandara (1996), estudando uma população de *Cedrela fissilis*, não observou desvios da população ao EHW, concluindo que populações de espécies raras podem apresentar cruzamentos ao acaso, apesar das dificuldades relacionadas à polinização a grandes distâncias. No entanto, o mesmo encontrou desvios significativos para as famílias, mostrando que a população apresenta uma certa proporção de autofecundação e/ou cruzamento entre aparentados. O fato de adultos em equilíbrio gerarem progênes fora de equilíbrio pode indicar desvios de cruzamento aleatórios e/ou a atuação de algum fator evolutivo, como migração e seleção para heterozigotos (Gandara, 1996).

Os resultados obtidos pelo teste P de Fisher para verificação dos desvios das frequências alélicas em relação ao esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg reforçam a tendência de ocorrência de deriva genética sobre as progênes, indicando o aumento da endogamia nas classes superiores.

4.5.2 Taxas de cruzamento

O sistema reprodutivo foi avaliado para as progênies de cada uma das três populações e na Tabela 7 são apresentadas as estimativas das taxas de cruzamento multilocos (\hat{i}_m), uniloco (\hat{i}_s), e taxa da autofecundação (\hat{s}) para as progênies avaliadas.

As estimativas das taxas de cruzamento \hat{i}_m indicam a proporção de cruzamentos pelas quais as progênies foram originadas, \hat{i}_s , a proporção de cruzamento entre não aparentados, a diferença de $\hat{i}_m - \hat{i}_s$ cruzamento entre aparentados e \hat{s} , a taxa de autofecundação.

Para as progênies da Mata do Galego, foi verificado que todas as plântulas foram provenientes de cruzamentos, sendo 94,3% entre não aparentados, 5,7% entre aparentados a uma taxa de 19% de autofecundação. A taxa de fecundação de cada família variou de 0,15 a 1,00, sendo que somente a família P02 apresentou taxa de cruzamento baixa. Este fato pode ser devido ao assincronismo na floração da árvore matriz em relação às demais da população ou mesmo em relação a outras árvores, o que possibilitou a autofecundação.

Nas progênies da Mata do Capivari estas proporções foram de 97,5% de cruzamento, sendo 91,8% entre não aparentados, 5,7% entre aparentados e autofecundação de 24%. Para as famílias avaliadas, a taxa de cruzamento foi de 0,95 e 0,57 para as famílias P01 e P02, respectivamente. Somente nesta última a taxa de autofecundação foi significativa, influenciando na taxa de autofecundação das progênies desta população.

TABELA 7. Taxa de cruzamento por progênie (t), taxas de cruzamento multilocos (\hat{t}_m), unilocos (\hat{t}_s) e a taxa de autofecundação nas populações (\hat{s}) de *Cedrela fissilis* Vell. (Os desvios padrões se encontram entre parênteses).

PROGÊNIES	t	\hat{t}_m	\hat{t}_s	$\hat{t}_m - \hat{t}_s$	\hat{s}
Galego					
P 01	1,00 (0,00)				0,00
P 02	0,15 (0,08)				0,85
P 03	0,74 (0,26)				0,26
P 04	1,00 (0,00)				0,00
P 05	1,00 (0,00)				0,00
P 06	1,00 (0,00)				0,00
P 07	0,78 (0,13)				0,22
Média		1,000 (0,000)	0,943 (0,014)	0,057 (0,014)	0,19
Capivari					
P 01	0,95 (0,02)				0,05
P 02	0,57 (0,04)				0,43
Média		0,975 (0,021)	0,918 (0,024)	0,057 (0,015)	0,24
Lagoa					
P 01	0,96 (0,13)				0,04
P 02	1,00 (0,00)				0,00
Média		1,000 (0,000)	0,978 (0,008)	0,022 (0,008)	0,02

Já para as progênies da Mata da Lagoa, também as plântulas foram geradas exclusivamente por cruzamentos (100%); 97,8% destes ocorreram entre indivíduos não aparentados, 2,2% entre parentes e a uma taxa de autofecundação de 2%. As taxas de cruzamento por família foram de 0,96 e 1,00.

As altas taxas de cruzamento encontradas neste trabalho estão compatíveis com as encontradas para outras espécies arbóreas como *Pithecellobium pedicellare* (O'Maley e Bawa, 1987), *Hevea brasiliensis* (Paiva, 1992), *Myracrodruon urundeva* (Lacerda, 1997), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997), *Machaerium villosum* (Giudice

Neto,1999) e *Copaifera langsdorffii* (Oliveira, 2000) em que os valores encontrados foram 0,95, 0,85, 0,64, 0,49, 0,75, 0,81, 0,74, 0,92, respectivamente.

No entanto, as taxas de cruzamento encontradas para as três populações de *Cedrela fissilis* analisadas reforçam a tese de que os desvios ao EHW encontrados são provenientes de fatores evolutivos como deriva genética e também ocorrência de migração.

A ocorrência de sistema de reprodução do tipo misto com predominância de alogamia, como observado nas populações estudadas, que é uma combinação de cruzamentos aleatórios e autofecundação, já foi observado para várias espécies. Entre estas, *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Cryptocaria moschata* (Moraes, 1997), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997) *Aspidosperma poplyneurum* (Maltez, 1997), *Machaerium villosum* (Giudice Neto, 1999), *Copaifera langsdorffii* (Oliveira, 2000) e *Euterpe edulis* (Reis, 1996; Gaiotto, 2001).

4.6 Fluxo gênico (\hat{N}_m)

Estimativas de fluxo gênico e tamanho de vizinhança foram feitas para cada par de populações avaliadas e se encontram na Tabela 8.

O número de migrantes encontrado foi alto nas populações, como pode ser observado na Tabela 7. O fluxo gênico (\hat{N}_m) e o tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) médios estimados das populações foram 2,34 e 14; já para o conjunto das três populações estes foram 3,63 e 22.

Segundo Slatkin e Barton (1989), os valores \hat{N}_m e \hat{N}_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre

locais, em que valores maiores que 1,0 indicam fluxo gênico suficiente para prevenir diferenciação de populações pela deriva genética.

Observa-se, então, que o número médio de migrantes por geração é alto, \hat{N}_m igual a 2,34, sendo o tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) em torno de 14 indivíduos. Isso indica que está em torno de 14 o número de genitores que trocam alelos ao acaso. Estes resultados apontam para um fluxo gênico suficientemente efetivo para contrapor aos efeitos da deriva genética.

Valores de \hat{N}_m e \hat{N}_b para populações de espécies arbóreas estudadas são variáveis, sendo 1,04 e 6,0 em *Cryptocaria moschata* (Moraes, 1997), 10,7 e 67,0 em *Euterpe edulis* (Reis, 1996), 0,79 e 2,0 em *Copaifera langsdorffii* (Oliveira, 2000) e 0,98 (\hat{N}_m) em *Aspidosperma polyneurum* (Maltez, 1997). Em outro trabalho com *C. langsdorffii*, utilizando-se marcador microssatélite, Ciampi (1999) encontrou valores de fluxo gênico de 3,74 a 6,35, mais altos dos que os valores encontrados em marcadores isoenzimáticos, já que se trata de um marcador mais sensível (poderoso). Valores similares aos aqui encontrados foram observados por Giudice Neto (1999) em *Machaerium villosum* (2,09 e 13,0).

TABELA 8. Fluxo gênico (\hat{N}_m), estimativas indiretas do tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) a partir de estimativas de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) de três populações tomadas duas a duas e a três juntas.

Populações	n	np	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m	\hat{N}_b
Galego e Capivari	61	2	0,028	2,13	13,39
Galego e Lagoa	52	2	0,048	1,24	7,76
Capivari e Lagoa	19	2	-0,017	3,66	23,01
Média				2,34	14,72
Galego + Capivari + Lagoa	66	3	0,030	3,63	22,81

n = número de indivíduos amostrados; np = número de populações.

De acordo com Reis (1996), um número reduzido de indivíduos em uma mesma unidade de área pode acarretar em aumento da divergência genética entre as vizinhanças. Isso ocorre devido ao aumento dos níveis internos de endogamia, o que pode vir a alterar a estrutura genética da população a médio prazo. Pelo aumento da endogamia os efeitos da deriva genética podem acentuar-se, levando à perda de alelos de menor frequência, reduzindo os níveis de heterozigosidade e, conseqüentemente, a diversidade genética da população (Oliveira, 2000).

Os valores estimados de fluxo gênico indicam maior similaridade entre as matas do Capivari e Lagoa, o que era esperado já que estes fragmentos se encontram mais próximos, situando-se no mesmo município. A similaridade encontrada entre as matas do Galego e Capivari pode ser devida ao fato de estes se encontrarem às margens de rio (Ingaí e Capivari) pertencentes à bacia do Rio Grande. Nesta bacia são encontrados vários fragmentos margeando o rio, propiciando o fluxo gênico e acarretando em menor divergência entre estes.

4.7 Tamanho efetivo (\hat{N}_e)

O conhecimento do tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) é imprescindível quando o objetivo é preservação de germoplasma, coleta de sementes e/ou conservação *in situ*, já que mede a representatividade genética dos indivíduos amostrados na população em relação a uma população panmítica ideal.

Moraes (1997) ressalta que as estimativas dos tamanhos efetivos populacionais são indicadores instantâneos da representatividade genética das amostras obtidas a partir das frequências alélicas. Portanto, fatores dinâmicos que afetam a distribuição das frequências alélicas devem ser levadas em consideração, tais como: i) flutuações do tamanho populacional entre gerações; ii) variação de fertilidade entre os indivíduos; iii) estrutura de idades e sobreposição de gerações e iv) tamanho de vizinhança (Frankel *et al.*, 1995).

As estimativas do tamanho efetivo populacional foram obtidas a partir dos coeficientes de divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_P$), divergência genética entre progênies ($\hat{\theta}_F$) e coeficiente de endogamia para o conjunto das populações e para o conjunto das famílias de cada população (Tabela 4). Para as populações, a estimativa de \hat{N}_e (Tabela 9) calculada foi muito semelhante ao número de indivíduos amostrados nas populações. O tamanho amostral foi de 47 indivíduos adultos na Mata do Galego, 14 na Mata do Capivari e 5 na Mata da Lagoa, e representando geneticamente 55,36; 13,26 e 8,62 plantas, respectivamente, de uma população panmítica ideal. Os valores de \hat{N}_e reafirmam a existência de baixa endogamia nas populações estudadas, já que os tamanhos efetivos calculados para cada uma das populações foi superior ao número de indivíduos amostrados. Os heterozigotos, por carregarem sempre dois alelos, representam um maior número de indivíduos na população e para as populações analisadas, em todas foi observada alta heterozigosidade.

O parâmetro tamanho efetivo por matriz ($\hat{N}_{e/matriz}$) foi obtido pela relação direta do tamanho efetivo calculado nas progênies (\hat{N}_e) e o número de matrizes analisadas (M), em que o máximo por matriz calculado pelo coeficiente de divergência genética, onde $\hat{N}_{e/matriz}^2 = 1/(2\hat{\theta}_F)$. O tamanho efetivo máximo a ser assumido pelo \hat{N}_e nessa amostragem foi obtido por $\hat{N}_{e/matriz}^{máximo} = M/(2\hat{\theta}_F)$ (Tabela 9).

TABELA 9. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), tamanho efetivo por matriz ($\hat{N}_e/matriz^1$), tamanho efetivo máximo por matriz ($\hat{N}_e/matriz^2$), número de matrizes (M) e número de indivíduos (N) de três populações naturais de *Cedrela fissilis* a partir de dados de indivíduos adultos e progênies das populações.

Populações	\hat{N}_e	$\hat{N}_e/matriz^1$	$\hat{N}_e/matriz^2$	\hat{N}_e máximo	M	N
Galego	55,36	-	-	-	7	47
Capivari	13,26	-	-	-	2	14
Lagoa	8,62	-	-	-	2	5
Galego + Capivari + Lagoa	16,45	-	-	-	11	66
Progênies						
Galego	10,76	1,54	3,87	27,09	-	139
Capivari	11,65	5,83	8,93	17,85	-	33
Lagoa	6,71	3,36	3,74	7,48	-	39

Para espécies alógamas de população infinita ou da ordem de centenas, o valor máximo assumido por \hat{N}_e é $4M$, sendo M o número de matrizes; assim, o $\hat{N}_e/matriz^1$ pode atingir valor 4. No entanto, o valor de $\hat{N}_e/matriz^1$ estimado para as progênies da Mata do Capivari foi superior a quatro (5,83), o que pode ser devido a erros na estimativa. Para superar estes erros, este mesmo parâmetro, $\hat{N}_e/matriz^2$, foi calculado a partir da divergência genética entre famílias nas progênies.

Para as progênies da Mata do Galego, o \hat{N}_e calculado foi 10,76, indicando que as 139 sementes amostradas de 7 matrizes equivalem a 10 indivíduos, ou 7,74% do total, resultando em $\hat{N}_e/matriz^1$ de 1,54 (10,76/7), devido ao tamanho finito da amostra, em torno de 20. O tamanho efetivo populacional máximo por matriz ($\hat{N}_e/matriz^2$) foi de 3,87, o que faz com que o valor máximo a

ser assumido por \hat{N}_e ($\hat{N}_{e, \text{máximo}}$) nessa amostragem, com N infinito, seja de 27,09. Com isso, o \hat{N}_e obtido corresponde à 39,72% do $\hat{N}_{e, \text{máximo}}$.

Para as progênies da Mata do Capivari, o \hat{N}_e calculado foi 11,65 indicando que as 33 sementes amostradas de 2 matrizes equivalem a 11 indivíduos, ou 35,30% do total, resultando em $\hat{N}_e / \text{matriz}^1$ de 5,83 (11,65/2), também devido ao tamanho finito da amostra, em torno de 16. O tamanho efetivo populacional máximo por matriz ($\hat{N}_e / \text{matriz}^2$) foi de 8,93, o que faz com que o valor máximo a ser assumido por \hat{N}_e ($\hat{N}_{e, \text{máximo}}$) nessa amostragem, com N infinito, seja de 17,85. Com isso, o \hat{N}_e obtido corresponde à 65,27% do $\hat{N}_{e, \text{máximo}}$.

Para as progênies da Mata da Lagoa o \hat{N}_e calculado foi 6,71, indicando que as 39 sementes amostradas de 2 matrizes equivalem a 6 indivíduos, ou 17,21% do total, resultando em $\hat{N}_e / \text{matriz}^1$ de 3,36 (6,71/2), devido ao tamanho finito da amostra, em torno de 20. O tamanho efetivo populacional máximo por matriz ($\hat{N}_e / \text{matriz}^2$) foi de 3,74, o que faz com que o valor máximo a ser assumido por \hat{N}_e ($\hat{N}_{e, \text{máximo}}$) nessa amostragem, com N infinito, seja de 7,48. Com isso, o \hat{N}_e obtido corresponde à 89,71% do $\hat{N}_{e, \text{máximo}}$.

Vencovsky (1987) afirma que, para a maximização das atividades de coleta de sementes, é importante se ter informações a respeito da representatividade genética das matrizes da população, podendo então ser calculado o número de matrizes a serem amostradas. O mesmo autor sugere que, para a coleta de sementes e conservação de germoplasma, o aumento do \hat{N}_e seja feito por meio do controle gamético feminino, coletando-se igual número de

sementes de cada planta matriz. Esta prática resulta em igual contribuição de gametas femininos, já que é excluído o risco de contribuição desigual entre matrizes, redução da deriva genética e conseqüente aumento do tamanho efetivo. Portanto, a amostragem deve ser aleatória não nas sementes e sim nas matrizes, tomando-se o cuidado de amostrar igual número de sementes do maior número possível de plantas genitoras.

Então, para a coleta de sementes de *Cedrela fissilis*, recomenda-se amostragem de, pelo menos, 17 indivíduos matrizes, para que se garanta a manutenção da variabilidade genética nas sementes. No enriquecimento ou recuperação de áreas, a coleta de sementes a partir deste princípio proporcionará infinitas novas recombinações genóticas na população, elevando seu potencial evolutivo.

A estimativa do tamanho efetivo é, também, de suma importância no cálculo da estimativa da área necessária para a conservação *in situ* de determinada espécie. Frankel e Soulé (1981) sugerem que o tamanho efetivo seja igual a 50 para conservação a curto prazo e 500 para conservação a longo prazo. A relação entre o tamanho efetivo e o tamanho real populacional (\hat{N}_e/N) permite calcular a população mínima viável (PMV), que corresponde ao número de indivíduos necessários à população para a manutenção de sua integridade genética.

A partir do valor da PMV calculada e da densidade de indivíduos nas áreas estudadas, e tomando-se como base valores de \hat{N}_e 50 e 500, foi possível calcular a área necessária para a conservação da espécie, na região, a médio e longo prazo, respectivamente. Sendo 0,77 a densidade média entre os fragmentos e as PMVs iguais a 200 e 2000, para \hat{N}_e 50 e 500, para o conjunto das populações, têm-se 260 e 2.600 ha como os tamanhos das áreas necessárias

para a conservação da espécie, na região, a médio e longo prazo, respectivamente.

4.8 Estrutura genética espacial

Na tabela 10 são apresentados os valores encontrados do índice I de Moran pelo algoritmo do vizinho mais próximo e pela conexão de Gabriel.

Para os doze alelos dos sete locos analisados, os valores de I não foram significativos, indicando que a população não apresenta estruturação espacial. Este fato é confirmado pela análise de autocorrelação para as nove classes de distância analisadas (Tabela 11), onde somente o alelo 2 do loco Po-3 apresentou autocorrelação negativa significativa (a 1% de probabilidade). Os correlogramas gerados são apresentados nas Figuras 7 e 8.

TABELA 10. Coeficientes de autocorrelação espacial (índice I de Moran) para dois métodos de pareamento de indivíduos: vizinho mais próximo (I_n) e conexão de Gabriel (I_g), distância média entre indivíduos pareados e número de comparações em uma população natural de *Cedrela fissilis* (Mata do Galego).

Loco	Alelo	I_n	I_{vmp}
Acp-1	2	0,207 ^{ns}	0,254 ^{ns}
	3	0,046 ^{ns}	0,184 ^{ns}
Acp-2	1	-0,207 ^{ns}	-0,166 ^{ns}
Est-2	1	0,120 ^{ns}	0,052 ^{ns}
	3	0,104 ^{ns}	-0,056 ^{ns}
Po-1	1	-0,023 ^{ns}	-0,010 ^{ns}
	3	-0,027 ^{ns}	0,027 ^{ns}
Po-2	1	-0,044 ^{ns}	-0,042 ^{ns}
	3	-0,128 ^{ns}	-0,104 ^{ns}
Po-3	2	-0,094 ^{ns}	-0,065 ^{ns}
	3	-0,092 ^{ns}	-0,053 ^{ns}
Po-4	1	-0,107 ^{ns}	-0,188 ^{ns}
Distância média (m)		13,2 ± 541,8	17,0 ± 781,0
Número de comparações		46	32

O principal fator que concorre para a não formação de estruturação espacial é o fluxo gênico intrapopulacional que, quando é extenso, evita divergências locais nas frequências gênicas. Em *Cedrela fissilis*, o fluxo gênico é considerado longo, podendo alcançar distâncias maiores que 950 m (Gandara, 1996), mostrando que o fluxo gênico é suficientemente amplo para prevenir a formação de agregados de indivíduos genotipicamente semelhantes (aparentados).

Os trabalhos relacionados à estruturação genética de populações têm mostrado padrão aleatório na distribuição espacial da variação genética, como observado em *Psychotria nervosa* (Dewey e Heywood, 1988), *Platypodium elegans* (Hamrick, Murawski e Nason, 1993), *Cedrela fissilis* (Gandara, 1996), *Chorisia speciosa* (Souza, 1997), *Aspidosperma polyneurum* (Maltez, 1997), *Myracrodruon urundeva* (Lacerda, 1997), *Cryptocaria moschata* (Moraes, 1997), *Genipa americana* (Sebbenn, 1997) e *Machaerium villosum* (Giudice Neto, 1999). Presença de estruturação espacial foi detectada em *Helicteres brevispira* (Franceschinelli e Kesseli, 1999), ocasionada por baixo fluxo gênico e em *Eugenia dysenterica* (Telles *et al.*, 2001), que apresentou padrão clinal de variação na estrutura espacial.

Hamrick, Murawski e Nason (1993) afirmam que somente nas espécies cuja dispersão de sementes é restrita formando agregados de plântulas e geralmente a dispersão é zoocórica. Por exemplo, em quiropterocoria, tal qual em *Piper* sp., é que pode haver forte estruturação espacial.

Em *Cedrela fissilis*, há um aumento na densidade de indivíduos de florestas primárias para secundárias, podendo levar a população antrópica à estruturação familiar, devido ao aumento da endogamia (F.B. Gandara, dados não publicados).

Duas das áreas estudadas apresentam-se antropizadas, matas do Capivari e Lagoa. A entrada de gado e a abertura de trilhas por pescadores na Mata do

Capivari e a entrada de gado na Mata da Lagoa, não promoveram aumento na densidade de indivíduos. Muito pelo contrário, a ausência de plântulas e indivíduos jovens foi constatada em ambos os fragmentos. Este fato pode explicar, em parte, a ausência de estruturação observada nas populações analisadas. Entretanto, a ausência de estruturação devido ao extenso fluxo gênico intrapopulacional parece ser a hipótese mais plausível.

TABELA 11. Coeficientes de autocorrelação espacial (coeficiente I de Moran) para 9 classes de distância e para 7 alelos de 7 locos e número de comparações, em uma população natural de *Cedrela fissilis* Vell.

		Classes de distância†								
loco	alelo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Acp-1	2	-0,004	0,020	-0,153	-0,056	-0,034	0,223	-0,073	0,039	-0,059
	3	0,023	-0,068	-0,082	-0,001	0,125	-0,088	-0,009	-0,150	-0,023
Acp-2	1	-0,082	-0,024	0,014	-0,037	0,004	0,010	0,033	-0,037	-0,006
Est-2	1	0,026	-0,071	-0,112	-0,019	0,138	-0,090	-0,046	-0,033	-0,005
	3	-0,059	0,051	-0,044	-0,002	-0,078	-0,006	-0,043	-0,003	-0,003
Po-1	1	-0,041	-0,021	-0,030	-0,038	-0,016	0,008	-0,008	0,022	0,000
	3	-0,025	-0,061	-0,003	-0,014	0,022	-0,029	-0,020	-0,010	-0,051
Po-2	1	-0,017	-0,094	0,013	-0,031	0,047	0,001	-0,113	0,056	-0,007
	3	-0,089	0,002	0,035	-0,012	-0,086	-0,035	0,105	-0,048	-0,003
Po-3	2	-0,024	-0,054	0,014	-0,029	0,089	-0,057	0,037	-0,029	-0,319**
	3	-0,046	-0,075	-0,008	-0,051	0,126	-0,078	0,014	-0,051	-0,001
Po-4	1	-0,042	-0,027	-0,007	0,037	-0,062	-0,061	0,109	-0,085	-0,092
Nº de comparações		196	193	159	154	134	77	69	55	46

**P<0,001 †Classes de distância em metros: 0 a 10, 10 a 20, 20 a 30, 30 a 40, 40 a 50, 50 a 60, 60 a 70, 70 a 100, 100 a 550.

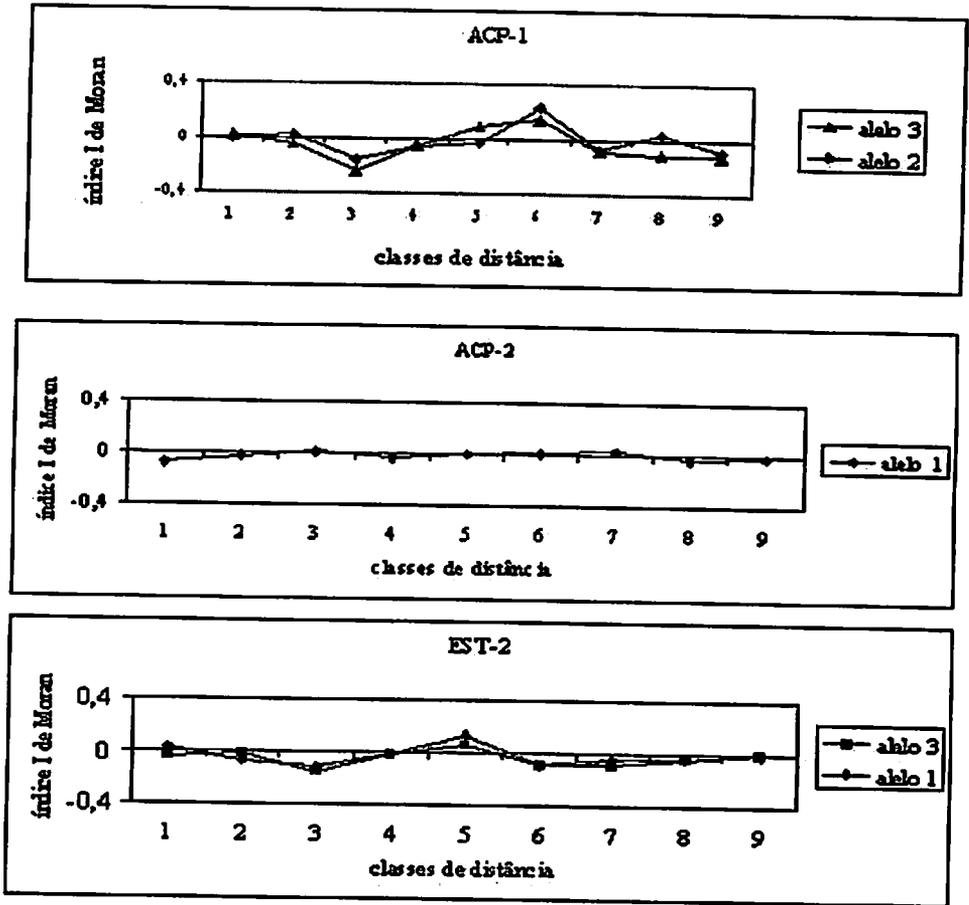


FIGURA 7. Correlogramas para os alelos dos locos Acp-1, Acp-2 e Est-2 para 9 classes de distância em uma população natural de *Cedrela fissilis*.

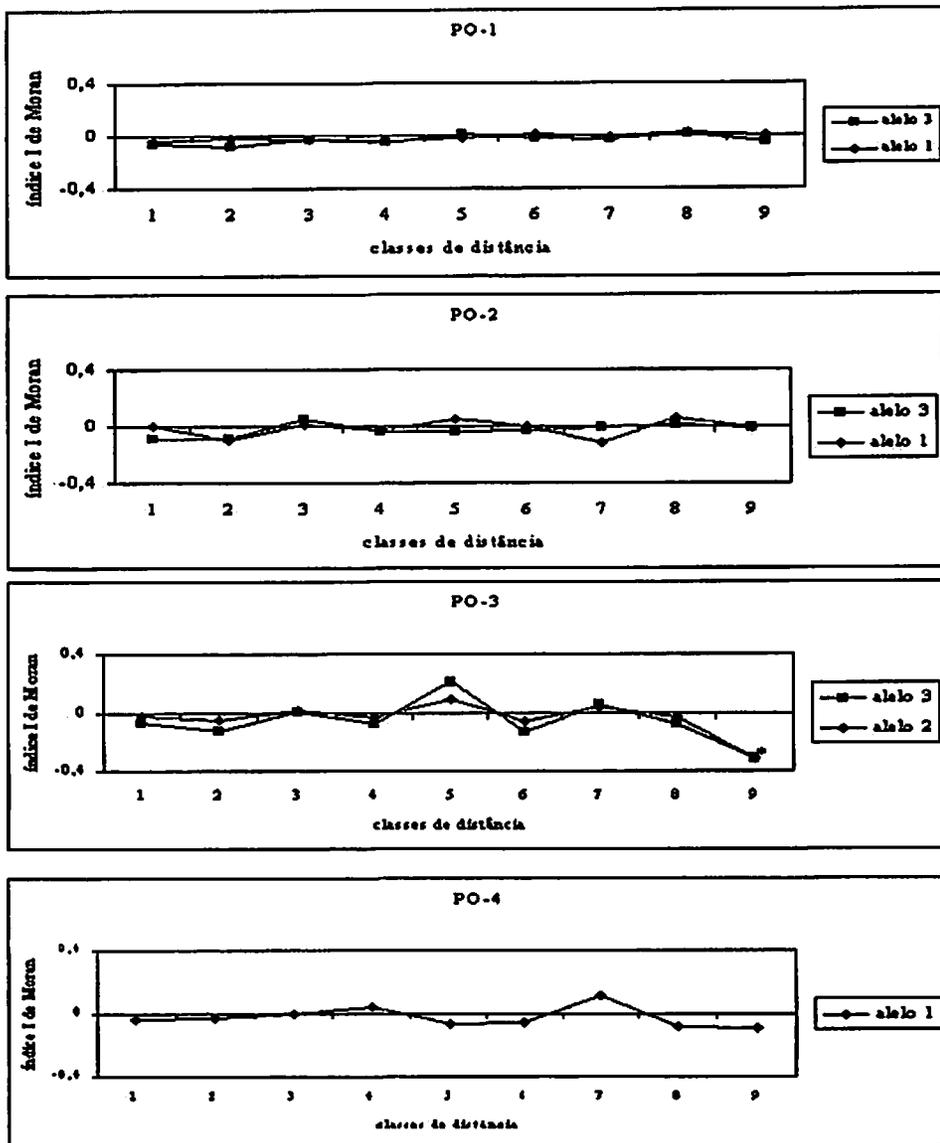


FIGURA 8. Correlogramas para os alelos dos locos Po-1, Po-2, Po-3 e Po-4 para 9 classes de distância em uma população natural de *Cedrela fissilis*. (*indica autocorrelação significativa a 1% de probabilidade)

CONCLUSÕES

O estudo das populações naturais de *Cedrela fissilis* Vell. por meio de dados de isoenzimas possibilitou chegar às seguintes conclusões:

- a análise das freqüências alélicas indicam haver variabilidade tanto dentro quanto entre as populações e suas progênies;
- a presença de alelos exclusivos às progênies indica haver fluxo gênico entre as populações dos fragmentos estudados e de outros fragmentos;
- nas populações analisadas grande parte da variabilidade genética se encontra dentro das populações e não entre estas;
- ambos, adultos e progênies, não se encontram em equilíbrio, possivelmente devido ao excesso de heterozigotos indicado pelo índice de fixação. O mesmo índice também apontou para provável ocorrência de deriva genética gerando endogamia das plântulas para as classes superiores;
- os índices de diversidade genética detectados em ambos, adultos e progênies, são altos; isso confirma a hipótese de que espécies raras não necessariamente apresentam baixos índices de diversidade quando comparadas as comuns, indicando não haver um padrão para estes grupos de espécies;
- de acordo com as estimativas dos parâmetros do sistema reprodutivo, verifica-se que *C. fissilis* é uma espécie de reprodução mista predominantemente alógama;

- as estimativas de fluxo gênico indicam serem as populações das matas do Capivari e Lagoa as mais similares, devido à maior proximidade entre estas. As matas do Galego e Capivari também apresentam similaridade, o que pode ser devido ao fluxo gênico entre fragmentos de matas ciliares dos rios pertencentes a mesma bacia hidrográfica;

- a estimativa do tamanho efetivo populacional sugere para a espécie, na região, uma população mínima viável de 200 e 2.000 indivíduos e área para sua conservação *in situ* e 260 e 2.600 ha, para tamanhos efetivos de 50 e 500;

- a análise de autocorrelação espacial de genótipos demonstra não haver estruturação na população analisada (Mata do Galego), indicando que os genótipos estão distribuídos ao acaso na área estudada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins; fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARAY, A. A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species. *Evolution*, Washington, v. 48, n. 2, p. 437-453, Apr. 1994.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARCIA-BARRIOS, R.; LARA-MORENO, C.; MARTÍNEZ-RAMOS, M. Demographic and genetics models in conservation biology: Applications and perspectives for tropical rain forest tree species. *Annual Review for Ecology and Systematics*, Palo Alto, v. 27, p. 387-721, 1996.
- AMARAL, , L. G. Flora do Estado de Goiás. Goiânia: Universidade de Goiás, 1981. p. 1-56. Coleção Rizzo, v. 2, n. 37.
- BARRET, S. C. H.; HUSBAND, B. C. The genetics of plant migration and colonization. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (Ed.). *Plant population genetics, breeding and resources*. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 254-277.
- BARRET, S. C. H.; KOHN, J. R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D. A.; HOLSINGER, K. E. (Ed.). *Genetic and conservation of rare plants*. New York: Oxford University Press, 1991. p.3-30.
- BAWA, K. S.; ASHTON, P. S. Conservation of rare trees in tropical rain forests: a genetic perspective. In: HOISINGER, D.; FALK, A. (Ed.) *Genetics and conservation of rare plants*. St Louis, MO. p. 62-74. 1991.
- BILLINGTON, H. L. Effect of population size on the genetic variation in a dioecius conifer. *Conservation Biology*, Cambridge, v. 5, n. 1, p. 115-119, Mar. 1991.
- BROWN, A. H. D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theoretical Applied and Genetics*, Berlin, v. 52, n. 4, p. 145-157, 1978.

BROWN, A. H. D.; WEIR, B. S. Measuring genetic variability in plant populations. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. (Ed.) **Isozymes in plant genetics and breeding. Part A.** Amsterdam: Elsevier, 1983. p. 219-239.

BRUNE, A. Preservação das reservas genéticas de árvores nativas brasileiras. **Brasil Florestal**, Brasília, v. 6, n. 24, p. 19-21, out./dez. 1975.

BUCKLEY, D. P.; O'MALLEY, D. M.; APSIT, V.; PRANCE, G. T.; BAWA, K. S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. : Lecythidaceae). 1. Genetic variation in natural populations. **Theoretical Applied and Genetics**, Berlin, v. 76, n. 6, p. 923-928, 1988.

CARVALHO, J. C. Gestão florestal em Minas Gerais. In: LOPES, I. V.; BASTOS FILHO, G. S.; BILLEER, D.; BALE, M. (Org.) **Gestão ambiental no Brasil: experiência e sucesso.** Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, 1996.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Colombo – PR: EMBRAPA – CNPF, 1994. 640p.

CHAPLIN, G. E. Progress with provenance exploration and seed collection of *Cedrela* spp. In: FORESTRY CONFERENCE, COMMONWEALTH FORESTRY INSTITUTE, 11., 1980, England. 17p.

CHUNG, M. G.; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms in a population of *Eurya japonica* (Theaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2000.

CIAMPI, A. N. **Desenvolvimento e utilização de marcadores microssatélites, AFLP e seqüenciamento de cpDNA, no estudo da estrutura genética e parentesco em populações de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) em matas de galeria no Cerrado.** 1999. 109p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP.

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

CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; ALLARD, R. W. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. **Genetics**, Baltimore, v. 89, n. 4, p. 765-792, 1978.

- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. *Evolution*, Washington, v. 23, n. 1, p. 72-84, Mar. 1969.
- COCKERHAM, C. C.; WEIR, B. S. Estimation of gene flow from F-statistics. *Evolution*, Washington, v. 47, n. 3, p. 855-863, June 1993.
- COLES, J. F.; FOWLER, D. P. inbreeding in neighboring trees in two White Spruce populations. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 25, n. 1, p. 29-34, 1976.
- CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 81, p. 6073-6077, 1984.
- CROW, J. F.; KIMURA, M. A. *An introduction to population genetics theory*. New York: Harper & Row, 1970. 591p.
- DEPRN. Projeto olho verde. São Paulo: Departamento de Proteção aos Recursos Naturais do Estado de São Paulo, 1991.
- DEWEY, S. E.; HEYWOOD, J. S. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution*, Washington, v. 42, n. 4, p. 834-838, July 1988.
- DINIZ-FILHO, J. A. F. *Análise de autocorrelação espacial: inferências microevolutivas e aplicações em genética de populações*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1998. p. 83-145. Série Monografias, n. 6.
- EGUIARTE, L. E.; PEREZ-NASSER, N.; PIÑERO, D. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocarium mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, Oxford, v. 69, n. 3, p. 217-228, Sept. 1992.
- ELLSTRAND, N. C.; ELAM, D. R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, v. 24, p. 217-242, 1993.
- EPPERSON, B. K. Spatial distributions of genotypes under isolation by distance. *Genetics*, Baltimore, v. 140, n. 4, p. 1431-1449, Aug. 1995.
- EPPERSON, B. K. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. Y.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S (Ed.).

Plant populations genetics, breeding an genetics resources. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. p.229-253.

FAO. Databook on endangered tree and schrub species and provenances. Roma: Food and Agriculture Organization. 1986. 524p.

FRANCESCHINELLI, E. V.; KESSELI, R. Population structure and gene flow of the brazilian shrub *Helicteres brevispira*. Heredity, Oxford, v. 82, n. 4, p. 335-363, Apr. 1999.

FRANKEL, O. H. The place of management in conservation. In: SCHONEWALDCOX, C. M.; CHAMBERS, S. M; MAcBRYDE, B.; THOMAS, W. L. (Ed.). Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations. Menlo Park, California: The Benjamin/Cumming, 1983. p.1-14.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. The conservation of plant biodiversity. Cambrigde: Cambrigde University Press, 1995. 299p.

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

FRANKHAM, R. Conservation genetics. Annual Review of Genetics, Palo alto, v. 29, p. 305-327, 1995.

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

GAIOTTO, F. A. Inferências sobre herança quantitativa e estrutura genética em populações naturais de *Euterpe edulis* Mart. utilizando marcadores microssatélites. 2001. 122p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

GANDARA, F. B. Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae). 1996. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de Campinas, Campinas, SP.

GANDARA, F. B.; GRATTAPAGLIA, D.; KAGEYAMA, P. Y. et al. Towards the development of genetic and ecological parameters for *in situ* conservation of forest genetics resources. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE

- MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE EM UNIDADES DE CONSERVAÇÃO FEDERAIS, 1997, Pirenópolis. **Proceedings...** Brasília: IBAMA/Gtz, 1997. p.105-111.
- GITZENDANNER, M. A.; SOLTIS, P. S. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 6, p. 783-792, June 2000.
- GIUDICE-NETO, J del. Estrutura genética por isoenzimas em populações naturais de jacarandá paulista (*Macherium villosum* Vog.). 1999. 128p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Sp.
- GLAUBITZ, J. C.; MORAN, G. F. Genetic tools. In: YOUNG, A.; BOYLE, T.; BOSHIER, D. (Ed.). **Forest conservation genetics**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p.39-59.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13 ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 1990. 468p.
- HALL, P.; ORREL, L. C.; BAWA, K. S. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 81, n. 9, p. 1104-1111, Sept. 1994.
- HAMRICK, J. L. Plant population genetics and evolution . **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693, Oct. 1982.
- HAMRICK, J. L. The Distribution of Genetic Variation Within and Among Natural Plant Population. In: SCHONE-WALD-COX, C. M; CHAMBERS, S. H; MacBYDE, B.; THOMAS, L. **Genetics and conservation**. Menlo Park: California: Benjamin Cummings Publishing Company, 1983. p.335-348.
- HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. The genetic structure of tropical tree populations: associations with reproductive biology. In: BLOCK, J. H.; LINHART, Y. B. (Ed.). **The evolutionary ecology of plants**. Boulder, CO: Westview Press, 1989. p.129-146.
- HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. The influence of seed dispersal mechanism on the genetic structure of plant populations. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H. (Ed.). **Frugivores and seed dispersal**. Dordrecht, The Netherlands: Dr. Junk Publications, 1986. p.211-223.

HAMRICK, J. L.; MITTON, J. B.; LINHART, Y. B. Levels of genetic variation in trees: Influence of life history characteristics. In: CONKLE, M. T. **Isoenzymes of North American forest trees and forest insects**. Barckley, CA: USDA Forest Service General Technical Report, 1981. p.35-41. USDA Forest Service, PSW-48.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, New York, v. 7, n. 3, p. 395-399, Aug. 1991.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A.; NASON, J. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**, Dordrecht, v. 108, p. 281-97, June 1993.

HELDRIK, P. W.; MILLER, P. S. Conservation genetics: techniques and fundamentals. **Ecology Applied**, v. 2, p. 30-46, 1992.

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

HOWE, H. F.; SMALLWOOD, J. Ecology and seed dispersal. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 13, p. 201-228, 1982.

HUBBELL, S. P.; FOSTER, R. B. Commonness and rarity in a neotropical forest: implications for tropical tree conservation. In: SOULÉ, M. E. **Conservation biology**. Sunderland: Sinauer Ass. Publ. . 1986. 584p.

KAGEYAMA, P. Y. Genetic structure of tropical tree species of Brazil. In: BAWA, K. S.; HADLEY, M. (Ed.). **Reproductive ecology of tropical forest plants**. Paris: UNESCO/ Man and Biosphere Series, 1990. p.375-387.

KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, C. F. A.; CARPANEZZI, A. A. Implantação de matas ciliares: estratégias para auxiliar a sucessão secundária. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, 1989, São Paulo. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1989. p.130-143.

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

- KNOWLES, P. G. R.; PERRY, D. J.; FOSTER, H. A. Spatial genetic structure in two Tamarack [*Larix laricina* (Du Roi) K. Koch] populations with differing establishment histories. *Evolution*, Washington, v. 46, n. 2, p. 572-576, Apr. 1992.
- KAWAGUICI, C. B.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* em uma população de mata de galeria. *Scientia Forestales*, Piracicaba, n. 59, p. 131-143, jun. 2001.
- LACERDA, C. M. B. de. Diversidade genética por isoenzimas em populações naturais de aroeira (*Myracrodouon urundeva* Freire, F. & M. F. Allemão) Anacardeaceae no semi-árido. 1997. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- LANDE, R. Genetic and demography in biological conservation. *Science*, Washington, v. 241, n. 4872, p. 1455-1460, Sept. 1988.
- LAURANCE, W. F.; BIERREGARD, R.; MORITZ, C.; VIANA, V. M. et al. Tropical forest remnants: synthesis of a dynamic and eclectic. In: BIERREGARD, R.; LAURANCE, W. (Ed.) *Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragment communities*. Chicago: Chicago University Press, 1997.
- LEDIG, F. T. An analysis of methods for the tree from stands. *Forest Science*, Bethesda, v. 20, n. 1, p. 2-16, Mar. 1974.
- LEPSCH-CUNHA, N. I. Estrutura genética e fenologia de espécies raras de *Couratari* spp. (Lacythidaceae) na Amazônia Central. 1996. 147p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. GDA- Genetic data analysis: version 1. 0 (d12) for Windows. Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 39p.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, v. 15, p. 65-95, 1984.
- MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. Fichas de características das madeiras brasileiras. São Paulo: IPT- Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1989. 418p.

- MALTEZ, H. M. Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Müell. Arg – Apicynaceae (peroba rosa) em uma floresta estacional semidecidual no Estado de São Paulo. 1997. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de Campinas/Instituto de Biologia, Campinas, SP.
- MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. IPEF, Piracicaba, v. 35, p. 71-78, abr. 1987.
- MATTOS, J. R. Contribuição ao estudo do cedro – *Cedrela fissilis* Vell. Porto Alegre, RS: Instituto de Pesquisas de recursos Naturais Renováveis “AP”, 1980. 54p. Publicação IPRNR”AP” n. 4.
- MORAES, P. L. R. Estrutura genética de população de *Cryptocarya moschata* Nees e Martius Ex Nees (Lauraceae). 1997. 190p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/ Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.
- METTLER, I. E.; CREGG, T. G. Genética de populações e evolução. São Paulo: Polígono, 1973. 262p.
- MORELLATO, L. P. C. Estudo da fenologia de árvores e lianas de uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. 1991. 176p. Tese (Doutorado) - Universidade de Campinas/Instituto de Biologia, Campinas, SP.
- MURAWSKI, D. A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K. S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lanka tropical rain forest. *Biotropica*, St. Louis, v. 26, n. 1, p. 23-29, Mar. 1994.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 81, n. 2, p. 155-160, Feb. 1994.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L.; HUBBELL, S. P.; FOSTER, R. B. Mating systems of two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. *Oecologia*, New York, v. 82, n. 4, p. 501-506, 1990.
- NEI, M. F-statstics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annald of Human Genetics*, New York, v. 41, p. 225-233, Oct. 1977.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, Madison, v. 89, n. 3, p. 586-590, 1978.

- NEI, M. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press, 1987. 512p.
- O'MALLEY, D. M.; BAWA, K. S. Mating system of a tropical rain forest tree species. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 74, n. 8, p. 1143-49, Aug. 1987.
- ODEN, N. L. Assessing the significance of a spatial correlogram. *Geographical Analysis*, Columbus, v. 16, n. 1, p. 1-16, 1984.
- OLIVEIRA, A. F. Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas. 2000. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- OLIVEIRA, V. R. de. Diversidade Genética em populações de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC.) na região semi-árida do nordeste brasileiro. 1999. 127p. Tese (Doutorado em Ciências/ Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP.
- OLIVEIRA FILHO, A. T.; VILELA, E. A.; CARVALHO, D. A.; GAVILANES, M. C. Effects of soils and topography on the distribution of tree species in a tropical riverine forest in south-eastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, Cambridge, v. 10, n. 4, p. 483-508, Nov. 1994.
- PAIVA, J. R. Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex ADR. De Juss.) Muell. Arg.]. 1992. 142p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- PEDROSA-MACEDO, J. H. *Anual de pragas em florestas: pragas do sul do Brasil*. Piracicaba: IPEF/SIF, 1993. v. 2, 112p.
- PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T. *Meliaceae. Flora Neotropica*. New York: New York Botanical Garden, 1981. 470p. Monograph, v. 28.
- PINAZZO, J. Especies forestales del Paraguay en peligro de extinción. *Revista Florestal*, Assunción, v. 8, n. 1, p. 14-15, 1992.
- PINHEIRO, A. L.; MARAGON, L. C.; PAIVA, G. L. R. M. Características fenológicas do cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) em Viçosa, Minas Gerais. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Curitiba, v. 21, p. 21-26, jun./dez. 1990a.

PINHEIRO, A. L.; RAMALHO, R. S.; VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. Flórua arbórea de Viçosa. II. Meliaceae (*Cedrela* spp.). *Revista Ceres*, Viçosa, v. 37, n. 212, p. 289-299, jul./ago. 1990b.

RABINOWITZ, D.; CAIRNS, S.; DILLION, T. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of British Isles. In: SOULÉ, M. E. (Ed.) **Conservation biology: Science of scarcity and diversity**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1986. p.182-204.

REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmiteiro (*Euterpe edulis*)**. 1996. 209p. Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

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

RITLAND, K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *Journal of Heredity*, Cary, v. 81, p. 235-237, 1990.

RITLAND, K.; EL-KASSABY, Y. A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 71, n. 3, p. 375-384, 1985.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. *Heredity*, Oxford, v. 47, n. 8, p. 35-52, Aug. 1981.

RODRIGUES, L. A. **Estudo florístico e estrutural da comunidade arbustiva e arbórea de uma floresta em Luminárias, MG, e informações etnobotânicas da população local**. 2001. 183p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

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

Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEBBENN, A. M. Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar a partir de isoenzimas. 1997. 107p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEOANE, E.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Efeitos da fragmentação florestal sobre a estrutura genética de populações de *Esenbeckia liocarpa*. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, 2000. 30p.

SHAPCOT, A. The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). *Heredity*, Oxford, v. 74, n. 1, p. 28-38, Jan. 1995.

SHAW, D. V.; ALLARD, R. W. Estimation of outcrossing rates in Douglas-fir using isozyme markers. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 62, n. 2, p. 113-120, 1982.

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

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

SMITH, J.; EARLE, C. A revision of *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *Fieldiana*, Chicago, v. 29, n. 5, p. 295-341, 1960.

SOKAL, R. R.; JACQUEZ, G. M.; WOOTEN, M. C. Spatial autocorrelation analysis of migration and selection. *Genetics*, Baltimore, v. 121, n. 4, p. 199-228, 845-855, Apr. 1989.

SOKAL, R. R.; ODEN, N. L. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. *Biology Journal of the Linnean Society*, London, v. 10, n. 2, p. 199-228, 1978.

SOS Mata Atlântica; INPE. *Evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio da Mata Atlântica*. São Paulo, 1993.

SOUZA, J. S. Análise das variações florísticas e estruturais da comunidade arbórea de um fragmento de floresta semidecídua às margens do rio

Capivari, Lavras, MG. 2001. 75p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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. 1997. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

STYLES, B. T. The flower biology of the Meliaceae and its bearing on tree breeding. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 21, n. 5, p. 175-182, 1972.

STYLES, B. T.; KHOSLA, P. K. Cytology and reproductive biology of Meliaceae. In: BURLEY, J.; STYLES, B. T. (Ed.). *Tropical trees: variation, breeding and conservation*. London: Academic Press, 1976. p.61-68. Linnean Society of London Series, n. 2.

STYLES, B. T.; VOSA, C. G. Chromosome number in the Meliaceae. *Taxon*, Berlin, v. 20, n. 4, p. 485-499, 1971.

SWOFFORD, D. L.; SELANDER, R. B. Biosys-1. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Illinois: Release 1,7 Illinois Natural History Survey, 1989. 43p.

TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J. Autocorrelação espacial das frequências alélicas em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC., Myrtaceae) no sudeste de Goiás. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 145-154, jun. 2001.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. Isoenzimas: variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186p.

TURNER, I. M. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, v. 33, n. 2, p. 200-209, Apr. 1996.

VAN DEN BERG, E. Estudo florístico e fitossociológico de uma floresta ripária em Itutinga, MG, e análise das correlações entre variáveis ambientais e a distribuição das espécies de porte arbóreo-arbustivo. 1995. 73p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro - RJ: FIBGE, 1991.
- VENCOVSKY, R. Análise de Variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 15, p. 53-60, 1992. Suplemento, 1.
- VENCOKSKY, R. Biometrical approaches for molecular markers estimation of effective population size. In: **INTERNATIONAL WORKSHOP ON AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY**, 1997, Piracicaba. **Proceedings...** Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.233-234.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, abr. 1987.
- VENCOVSKY, R.; DIAS, C. T. S.; DEMÉTRIO, C. G. B. , LEANDRO, R. A.; PIEDADE, S. M. S. Reamostragem por "bootstrap" na estimação de parâmetros baseados em marcadores genéticos. In: **ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO**, 14., 1997. **Anais...** 1997. v. 14, p.59-72.
- WEIR, B. S. **Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1990. 377p.
- WEIR, B. S. **Genetic data analysis II: Method for discrete population genetic data**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1996. 445p.
- WENDEL, J. F.; WEEDEN, N. F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (Ed.). **Isozymes in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, 1989. p. 5-45.
- WRIGHT, S. **Evolution and genetics of populations: the theory of genes frequencies**. Chicago: University of Chicago Press, 1969. v. 2, 511p.
- WRIGHT, S. Isolation by distance under diverse systems of mating. **Genetics**, Baltimore, v. 31, p. 39-59, 1946.
- WRIGHT, S. Systems of mating. **Genetics**, Baltimore, v. 6, p. 111-178, 1921.
- YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluations of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Theaceae) in Korea based on allozyme

studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 37, n. 2, p. 141-146, Apr. 1996.

YOUNG, A.; BOYLE, T. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOYLE, T.; BOSHIER, D. (Ed.). **Forest conservation genetics**. Melbourne: CISRO Publishing, 2000. p.123-132.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetics consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology & Evolution**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 413-418, Oct. 1996.

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

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 2. ed. New Jersey: Englewood Cliffs, 1984. 718p.