

Variabilidade genética por isoenzimas em populações de
Copaifera langsdorffii Desf. em dois fragmentos de mata ciliar

Genetic variability by isozymes in populations of
Copaifera langsdorffii Desf. in two fragments of riparian forest

Sheila Isabel do Carmo Pinto
Anderson Marcos de Souza
Dulcinéia de Carvalho

RESUMO: Duas populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. foram estudadas por meio da eletroforese de isoenzimas e ambas foram comparadas visando determinar os níveis de variabilidade genética mantidos dentro e entre estas populações e o fluxo gênico. As populações amostradas localizam-se nos limites dos municípios de Lavras e Itumirim, sul do Estado de Minas Gerais, às margens do rio Capivari. Amostras de tecidos foliares de 53 indivíduos adultos foram coletadas para realização do estudo. A análise das duas populações revelou 24 alelos totais distribuídos em 11 locos. O polimorfismo (P) com limite de frequência igual ou inferior a 0,95 foi de 72,7%. O número médio de alelos por loco (A) variou entre 1,8 a 2,2 e a diversidade genética medida pela heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) variou entre 0,282 e 0,396. A estrutura genética revelou que há uma tendência ao excesso de homocigotos para o conjunto das populações ($\hat{F}_s = 0,098$). A divergência genética entre as populações foi alta (0,175), e o fluxo gênico foi baixo (0,29) indicando que as populações encontram-se isoladas entre si.

PALAVRAS-CHAVE: Estrutura genética, Isoenzimas, Variabilidade genética

ABSTRACT: Two populations of *Copaifera langsdorffii* Desf. were studied by isozymes electrophoresis and compared with an other population, aiming to determine the genetic variability levels maintained between and within the populations and the gene flow. The populations were sampled between the cities of Lavras and Itumirim, in the south of the State of Minas Gerais, at the Capivari riverbanks. Samples of leaf tissues were taken from 53 adult individuals. The analysis of two populations revealed 24 alleles distributed in 11 loci. The proportion of polymorphic loci (P) (0,95) was 72,7%. The average number of alleles per locus (A) was 1,8 to 2,2 and the genetic diversity measured by average heterozygosity expected (\hat{H}_e) was 0,282 to 0,396. The genetic structure revealed excess of homozygotes for two populations ($\hat{F}_s = 0,098$). The two populations presented genetic divergence ($\hat{G}_s = 0,175$). The gene flow evaluated by the number of migrants (\hat{N}_m) was 0,29 between the two populations.

KEYWORDS: Genetic structure, Genetic variability, Isozymes

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas naturais vêm sofrendo drasticamente com a atividade humana e esta ação devastadora traz alterações irreversíveis às espécies predominantes nestes ambientes. Dentre estas alterações, a redução dos habitats e o conseqüente desaparecimento de várias espécies

comprometem o patrimônio genético nestes ecossistemas. A fragmentação dos habitats propicia além da extinção, o declínio das populações, uma vez que as tornam vulneráveis à depressão endogâmica, à mudança genética e a outros problemas associados ao tamanho reduzido da população.

A fragmentação das áreas naturais nos trópicos tem sido assunto de vários estudos, principalmente pelos aspectos negativos sobre a biodiversidade. Entretanto, torna-se necessário o desenvolvimento de estudos de genética populacional das espécies que compõem tais ecossistemas, para que sejam estabelecidas estratégias de conservação genética pela aquisição de subsídios que contribuam para a conservação *in situ*, o manejo sustentado e a formação de áreas de coletas de sementes visando à recuperação de áreas degradadas.

Devido à grande diversidade de espécies florestais, é necessário que espécies modelos sejam escolhidas e, através de sua estrutura genética, possam identificar a erosão genética que o ecossistema vem sofrendo e, conseqüentemente, a perda de biodiversidade (Lacerda, 1997). Dentre essas espécies, a *Copaifera langsdorffii* Desf. apresenta-se adequada para estudos genéticos por ser uma espécie distribuída em toda a região do sul de Minas Gerais e com grande plasticidade ecológica. A espécie *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpiniaceae) apresenta ampla distribuição natural, ocorrendo em países como: Argentina (nordeste), Bolívia (sul), Paraguai (norte). Trata-se de uma espécie secundária tardia a clímax, longeva, podendo ser encontrada nas regiões fitoecológicas tais como: o Cerrado e Cerradão, a Caatinga / Mata-Seca, Campos Gerais e Campos Rupestres ou de altitude (Carvalho, 1992). A dispersão das sementes de copaíba é feita basicamente por aves (zoocórica), podendo também ser dispersa pelas águas dos rios (hidrocórica), devido à sua ocorrência junto aos cursos de água. Esta espécie apresenta propriedades antiinflamatórias, cicatrizantes, balsâmicas e purgativas (Barros, 1982). Brandão (1991) descreve também que o óleo-de-copaíba é usado em infusão para curar resfriado.

A espécie é recomendada para reposição de mata ciliar em locais com inundação periódica de média a longa duração, sendo portanto, indicada para plantio em áreas com o solo permanentemente encharcado (Torres et. al, 1992). Também é muito utilizada para plantio em áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 1992).O

óleo copaíba é classificado como espécie do grupo das indicadoras acompanhantes (Salvador, 1986) e sob o aspecto da sucessão secundária é classificado como espécie clímax (Kageyama et al. 1990).

Portanto, com o intuito de se conhecer a estrutura genética de duas populações naturais de *C. langsdorffii*, localizadas em matas ciliares, foram quantificadas a variabilidade genética intra e interpopulacional e determinado o fluxo gênico interpopulacional.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

A área de estudo está localizada às margens do rio Capivari, afluente do Rio Grande, entre os municípios de Lavras e Itumirim, no Estado de Minas Gerais (21°18'00" S e 44°53'30" W) a uma altitude de aproximadamente 918m (Foto 1). Neste estudo foram amostradas duas populações de *C. langsdorffii* Desf.: Mata Ciliar I [anteriormente estudada por Oliveira (2000)] e Mata Ciliar II, localizadas a 25m de distância uma da outra, sendo a primeira localizada à margem direita e a segunda, na margem esquerda do rio.

O tipo climático é Cwb na classificação de Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves e estiagem de inverno). A precipitação e a temperatura média anual é de 1493,2 mm e 19,3°C, respectivamente, 66% da precipitação ocorrendo no período de novembro a fevereiro (Oliveira Filho et al. 1994).

Amostragem dos indivíduos e procedimentos de eletroforese de isoenzimas

A amostragem dos indivíduos foi aleatória, procurando abranger toda a área. As coletas de material vegetal foram efetuadas a partir de tecidos foliares de 53 indivíduos reprodutivos [33 indivíduos para a Mata Ciliar I (por Oliveira, 2000) e 20 para a Mata Ciliar II]. Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por indivíduo, colocadas em caixa de isopor com gelo, transportadas para o laboratório de Melhoramento Florestal (DCF-UFLA) e armazenadas em freezer a (-18°C).

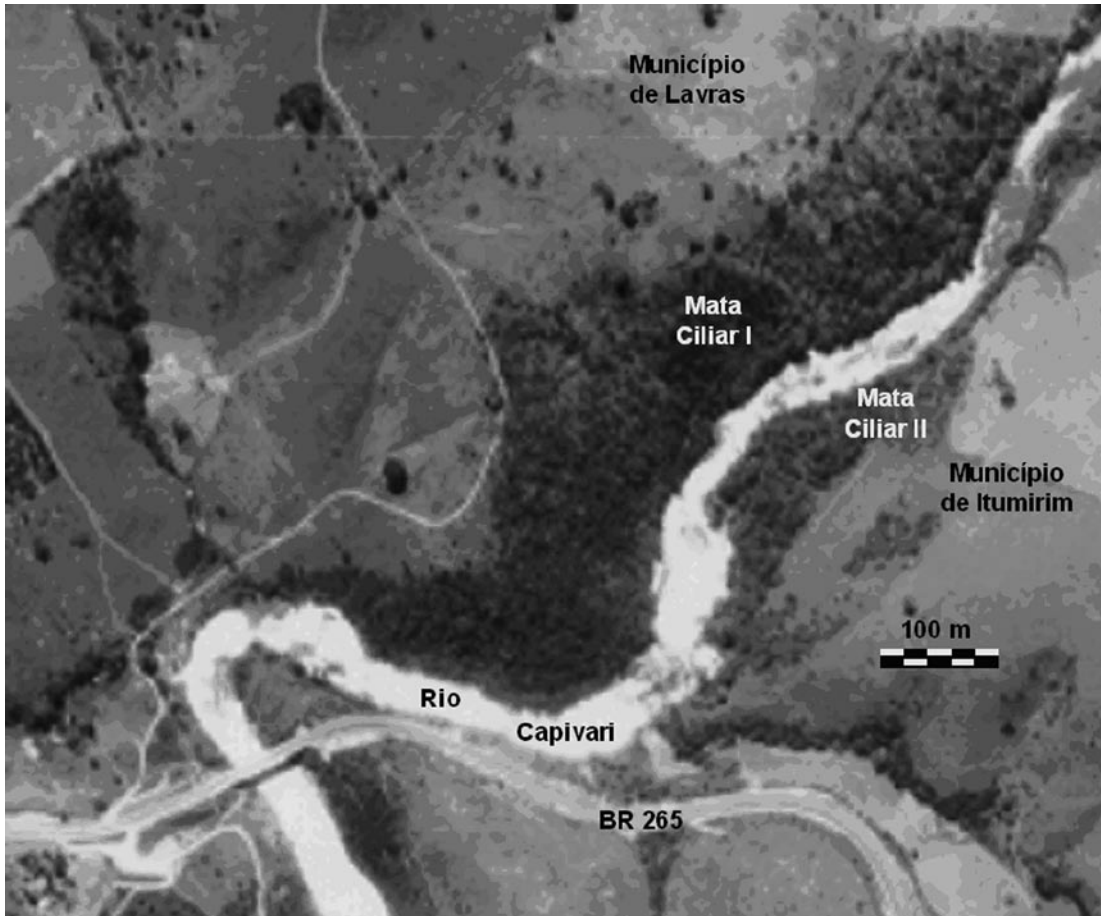


Figura 1
Vista aérea das matas estudadas.
(Aerial view of forests studied).

A extração de enzimas foi realizada em bastões e placas de porcelana resfriados, utilizando 1 mL da solução tampão n.1 de Alfenas et al. (1998). A eletroforese de isoenzimas utilizada foi a vertical, conduzida em meio suporte de gel de poliacrilamida, sendo o gel de concentração a 4,0% e o gel de separação a 12,5%. Ao término da corrida, as placas foram retiradas da cuba e os géis removidos das placas de vidro e submetidos à coloração em enzimas específicas (Tabela 1), até o aparecimento das bandas. Após o surgimento das bandas, os géis foram retirados da solução de revelação, lavados em

água corrente e fixados em solução aquosa de glicerol a 10%. A secagem dos géis deu-se através da transparentização dos mesmos pelo método do bastidor (Alfenas et al., 1991).

Interpretação dos zimogramas

As interpretações foram feitas logo após o término dos trabalhos de laboratório. A identificação das zonas codificadoras dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais catódica para a mais anódica. A interpretação de cada sistema enzimático foi realizada seguindo os padrões descritos por Alfenas et al. (1991).

Tabela 1

Sistemas enzimáticos testados em *Copaifera langsdorffii* Desf.
(Isozymes systems tested in *Copaifera langsdorffii* Desf.)

Enzima	Sigla	Código
Alfa-Esterase	α-EST	EC 3.1.1.1
Fosfatase Ácida	ACP	EC 3.1.3.2
Glutamato-Oxaloacetato Transaminase	GOT	EC 2.6.1.1
Malato Desidrogenase	MDH	EC 1.1.1.37
Peroxidase	PO	EC 1.11.1.7

EC.: (Enzyme Commission)

Análises estatísticas

A interpretação dos zimogramas permitiu a determinação dos genótipos de cada indivíduo, possibilitando estimar vários parâmetros que caracterizam a variabilidade genética entre e dentro das populações, a sua estrutura genética e o fluxo gênico entre as populações. Para estas análises foram utilizados os seguintes programas: BIOSYS-I (Swofford e Selander, 1989) e GDA (Lewis e Zaykin, 2000).

Análise dos dados

Pela interpretação dos zimogramas obtiveram-se as frequências alélicas em cada loco. A partir dessas frequências, estimaram-se os índices de diversidade segundo Brown e Weir (1983) e Nei (1987). As estimativas de parâmetros que medem a variabilidade genética intrapopulacional foram obtidas utilizando-se o software BIOSYS-I (Swofford e Selander, 1989).

Frequências alélicas

As frequências alélicas descrevem a variação para um loco e foram obtidas pela contagem direta do número de alelos por loco, dividido pelo número total de alelos no loco:

$$\hat{P}_i = n_i / n$$

em que: \hat{P}_i = frequência do alelo i

n_i = número de ocorrência do alelo i

n = número total de alelos amostrados

Varição genética intrapopulacional

A partir das frequências alélicas foram obtidos os índices de diversidade genética, tais como: heterozigose média observada (\hat{H}_o); heterozigose média esperada (\hat{H}_e); número médio de alelos por loco (A); porcentagem de locos polimórficos (P) e índices de fixação de Wright (\hat{f}), estimativas obtidas a partir do programa BIOSYS-I, desenvolvido por Swofford e Selander (1989).

Estrutura genética

A estrutura genética foi abordada a partir dos coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992). Os coeficientes de coancestralidade foram obtidos a partir da decomposição dos componentes de variação da análise de variância das frequências alélicas, conforme Cockerham (1969). A análise de variância foi realizada com a utilização do programa GDA (Lewis e Zaykin, 2000).

Fluxo gênico

As estimativas do fluxo gênico entre as populações foram obtidas segundo a equação proposta por Crow e Aoki (1984), segundo a qual:

$$\hat{N}_m = [(1/st)-1]/4\alpha$$

sendo: $\alpha = [n/(n - 1)]^2$

em que: \hat{N}_m = número de migrantes

n = número de populações

Fst = divergência genética entre populações

O tamanho da vizinhança foi estimado por:

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sistemas enzimáticos

Os sistemas enzimáticos analisados foram: α -EST, GOT, ACP, MDH e PO. As características apresentadas por cada sistema enzimático para os tecidos foliares de *C. langsdorffii* Desf. foram:

Alfa Esterase (α -EST): neste sistema enzimático observaram-se dois locos polimórficos passíveis de interpretação para as duas populações estudadas;

Fosfatase Ácida (ACP): este sistema enzimático apresentou quatro locos sendo os locos um e quatro monomórficos e os locos dois e três polimórficos;

Glutamato Oxaloacetato Transaminase (GOT): este sistema enzimático apresentou um loco, sendo polimórfico para a Mata ciliar I e monomórfico para a Mata ciliar II;

Malato desidrogenase (MDH): este sistema enzimático apresentou dois locos polimórficos passíveis de interpretação;

Peroxidase (PO): este sistema enzimático apresentou dois locos polimórficos.

Freqüências alélicas

As estimativas dos índices de diversidade genética das populações de *C. langsdorffii* Desf. foram obtidas a partir das freqüências alélicas de 24 alelos distribuídos em 11 locos (Tabela 2).

Na população Mata Ciliar I, dos 11 locos, dois apresentaram-se monomórficos (Acp-1 e Acp-4); na população Mata Ciliar II, 3 locos apresentaram-se monomórficos (Acp-1, Acp-4 e Got-1).

As freqüências alélicas variaram nas duas populações desde a fixação completa de alelos dos locos Acp-1 e Acp-4 (Mata Ciliar I) e Acp-1, Acp-4 e Got-1 (Mata Ciliar II), até freqüências muito baixas, como no caso do alelo 3 no loco Est-1 (0,029) e do alelo 2 no loco Got-1 (0,024), na Mata Ciliar I; o alelo 1 no loco Acp-3 (0,075), na Mata Ciliar II.

Portanto, os dados dos 11 locos demonstraram que as freqüências alélicas variaram tanto entre quanto dentro das populações.

Tabela 2

Freqüências alélicas e tamanho da amostra (n) em 11 locos aloenzimáticos.
(Alleles frequency and sample size (n) in 11 allozyme loci)

Loco	Alelo	Mata Ciliar I *	Mata Ciliar II
Est-1	1	0,529	0,389
	2	0,441	0,611
	3	0,029	0,000
	n	17	9
Est-2	1	0,464	0,250
	2	0,286	0,275
	3	0,250	0,475
	n	28	20
Acp-1	1	1,000	1,000
	n	13	20
Acp-2	1	0,654	0,175
	2	0,346	0,825
	n	13	20
Acp-3	1	0,769	0,075
	2	0,231	0,925
	n	13	20
Acp-4	1	1,000	1,000
	n	13	12
Got-1	1	0,976	1,000
	2	0,024	0,000
	n	21	18
Po-1	1	0,485	0,529
	2	0,409	0,471
	3	0,106	0,000
	n	33	17
Po-2	1	0,577	0,800
	2	0,423	0,200
	n	13	10
Mdh-1	1	0,464	0,900
	2	0,304	0,100
	3	0,232	0,000
	n	28	20
Mdh-2	1	0,500	0,639
	2	0,500	0,361
	n	13	18
Total de alelos	24	24	20

* Fonte: Oliveira, 2000.

Variabilidade genética intrapopulacional

Os parâmetros estimados a partir das frequências alélicas dos 11 locos isoenzimáticos para avaliar a variabilidade genética estão expostos na Tabela 3. A porcentagem de locos polimórficos a 0,95 de probabilidade foi de 72,7% para as duas populações. Comparando-se a porcentagem de locos polimórficos encontrados em *C. langsdorffii* Desf. (72,7%), com duas espécies arbóreas tropicais comuns, *Alseis blackiana* (89,3%) e *Psychotria horizontalis* (49,5%), estudadas por Hamrick e Loveless (1986), observou-se um valor pouco inferior ao da primeira espécie e muito superior ao da segunda. A análise da porcentagem de locos polimórficos mostra que a espécie *C. langsdorffii* apresenta um alto polimorfismo, o que torna estas populações favoráveis à conservação genética.

Em relação ao número de alelos por loco, observaram-se valores próximos a 2,2 (Mata Ciliar I) e 1,8 (Mata Ciliar II).

As heterozigosidades médias observadas nas populações de *C. langsdorffii* da Mata Ciliar I e Mata Ciliar II foram respectivamente 0,483 e 0,227. As heterozigosidades médias esperadas foram 0,396 e 0,282, revelando valores altos se comparados aos obtidos em outros estudos. Hamrick e Godt (1989) revisaram estudos de diversidade genética e encontraram uma heterozigosidade 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.

O valor do índice de fixação (\hat{f}) para a Mata Ciliar II mostrou-se positivo (0,196) sendo um indicativo de endogamia, porém, este não foi significativo. O índice de fixação para a Mata Ciliar I mostrou-se negativo (-0,203) e significativamente diferente de zero, indicando ausência de endogamia nesta população. Esse índice de fixação negativo pode ser um indício de seleção para heterozigotos. Em relação à ausência de significância estatística para o alto índice de fixação (0,196) na Mata Ciliar II provavelmente pode estar associado ao pequeno tamanho amostral (20 indivíduos).

Estrutura genética

A Tabela 4 apresenta o coeficiente de coancestralidade e os índices de fixação para as populações de *C. langsdorffii* Desf. O índice de fixação \hat{f} , mede a endogamia média dentro das populações; \hat{F} , a endogamia para o conjunto das populações e o $\hat{\theta}_p$, a divergência genética entre populações.

O índice de fixação para o conjunto das populações foi positivo ($\hat{F} = 0,098$) e para a média das populações foi negativo ($\hat{f} = -0,093$), mas ambos foram estatisticamente diferentes de zero, sugerindo ausência de endogamia.

A divergência genética entre as populações ($\hat{\theta}_p$) foi alta (0,175), mostrando que 17,5% da variabilidade genética encontra-se entre as populações e que 82,5% encontra-se dentro das populações. Segundo Oliveira (2000), a maioria das espécies arbóreas tropicais apresenta menos de 5% de divergência genética entre populações, na maioria das espécies esta se encontra na faixa de 3%. No entanto, neste estudo encontrou-se uma

Tabela 3

Índices de diversidade genética em duas populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras, Minas Gerais, baseados em 11 locos e cinco sistemas enzimáticos. (Indexes of genetic diversity of two populations of *Copaifera langsdorffii* Desf. in the region of Lavras, Minas Gerais, determined by 11 loci and five isozymes systems)

Índices de Diversidade Genética	Populações	
	Mata Ciliar I*	Mata Ciliar II
Heterozigosidade média observada (\hat{H}_o)	0,483 (0,103)	0,227 (0,076)
Heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e)	0,396 (0,077)	0,282 (0,071)
Porcentagem de locos polimórficos (0,95) (P)	72,7	72,7
Índice de fixação (\hat{f})	-0,203 [-0.334 a -0.033]	0,196 [-0.128 a 0.533]

* Fonte: Oliveira, 2000.

divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) muito acima deste valor (17,5%). A causa deve estar associada ao isolamento das populações e à deriva genética. Considerando a natureza supostamente neutra do marcador utilizando isoenzimas, a divergência entre as populações pode ser o resultado do processo de fragmentação levando à deriva genética.

A alta divergência frente à proximidade geográfica das populações indica que existe a tendência à dispersão de sementes próxima à árvore matriz, formando populações estruturadas em manchas. Isto explicaria a alta divergência observada, considerando que a medida de divergência usada (θ) mede a diferença entre populações em função da coancestria média dentro das populações. Assim, uma coancestria média de 0,175 indica que dentro das manchas (subpopulações) a coancestria estava entre a esperada em indivíduos meio-irmãos (0,125) e irmão completos (0,25).

Tabela 4

Coefficiente de coancestralidade e índices de fixação em duas populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Coefficient of coancestrality and fixation index in two populations of the *Copaifera langsdorffii* Desf.)

Loco	$\hat{\theta}_p$	\hat{F}	\hat{f}
Est-1	-0,026	0,122	0,144
Est-2	0,102	-0,245	-0,386
Acp-1	0,003	1,000	1,000
Acp-2	0,340	0,341	0,0001
Acp-3	0,593	0,560	-0,079
Got-1	-0,007	-0,004	0,004
Po-1	0,001	-0,185	-0,187
Po-2	0,053	-0,124	-0,1873
Mdh-1	0,230	-0,071	-0,391
Mdh-2	-0,028	0,266	0,286
Média	0,175	0,098	-0,093
	[0.029 a 0.330]	[-0,096 a 0.304]	[-0.250 a 0.089]

Desta forma supõe-se que o rio esteja interferindo na alta divergência encontrada entre as populações, pois, embora estejam muito próximas, a correnteza do rio desloca as sementes provenientes destes fragmentos para outros fragmentos a jusante, provavelmente impedindo a troca

de material genético via sementes entre as matas ciliares estudadas. Entretanto, a intervenção antrópica por meio da abertura de trilhas dentro da mata, o corte de lenhas, peças de madeira e a presença dos pescadores que invadem a área podem estar afugentando as espécies da fauna local que constituem os principais dispersores desta espécie.

Fluxo gênico (\hat{N}_m)

A estimativa de fluxo gênico para as populações é apresentada na Tabela 5. Para a estimativa do fluxo gênico, utilizou-se o coeficiente de coancestralidade de Cockerham ($\hat{\theta}_p$) como medida de diversidade genética entre populações, obtido a partir da análise de variância das frequências alélicas, conforme sugerem Cockerham e Weir (1993).

A partir da Tabela 5, observa-se que o número de migrantes por geração (\hat{N}_m) foi de 0,295, indicando um baixo fluxo gênico aparente, e o tamanho da vizinhança (\hat{N}_b) foi em torno de 1,88. Estes valores indicam que o fluxo gênico não é suficiente para evitar uma diferenciação intrapopulacional devido à deriva genética, podendo ser considerado, no entanto, relativamente pequeno quando comparado aos valores obtidos de outras espécies arbóreas tropicais. Para *Cryptocaria moschata* Moraes (1997) encontrou $\hat{N}_m = 1,04$ e $\hat{N}_b = 6,0$; para *Euterpe edulis* Reis (1996) encontrou $\hat{N}_m = 10,7$ e $\hat{N}_b = 67,0$; já Oliveira (2000) em *C. langsdorffii* obteve $\hat{N}_m = 0,79$ e $\hat{N}_b = 4,96$.

Segundo Oliveira (2000), o valor de \hat{N}_m calculado a partir de divergência genética reflete o fluxo gênico que ocorreu durante um longo período; ele não indica se está havendo obrigatoriamente fluxo gênico em determinado evento reprodutivo, mas estima os níveis de fluxo gênico que deve ter ocorrido no passado para produzir os padrões observados de estrutura genética. Se for considerado que o \hat{N}_m é realmente o resultado do fluxo gênico recente, as populações Mata ciliar I e Mata ciliar II trocam genes em baixa amplitude, confirmando a hipótese que o rio atua como barreira natural, restringindo o deslocamento das sementes.

Tabela 5

Estimativas de fluxo gênico (\hat{N}_m) e tamanho de vizinhança (\hat{N}_b), obtida a partir de estimativas de divergência genética ($\hat{\theta}_p$), em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Estimate of gene flow (\hat{N}_m), neighbouring size (\hat{N}_b), obtained from estimated genetic diversity ($\hat{\theta}_p$), of populations of *Copaifera langsdorffii* Desf.)

Populações	n	np	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m	\hat{N}_b
Mata Ciliar I e II	53	2	0,175	0,295	1,88

n = N° de indivíduos amostrados;

np = N° de populações.

CONCLUSÕES

O estudo das populações naturais de *C. langsdorffii* Desf. através de dados isoenzimáticos possibilitou chegar as seguintes conclusões:

- ✓ as frequências alélicas variam tanto dentro quanto entre as populações verificando diferenças significativas entre as duas populações;
- ✓ a estrutura genética foi caracterizada por apresentar uma maior variação genética dentro das populações (82,5%) e uma menor variação entre (17,5%);
- ✓ o índice de diversidade genética detectado foi alto quando comparado com outras espécies arbóreas tropicais, sugerindo que as populações estudadas são favoráveis à conservação genética *in situ*;
- ✓ pelas estimativas do fluxo gênico, verificou-se que as populações trocam genes em baixa amplitude.

AUTORES

SHEILA ISABEL DO CARMO PINTO é Bolsista de Iniciação Científica do CNPq – UFLA – Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 37 - Lavras, MG - 37.200-000 – E-mail: sheilaisabel@bol.com.br

ANDERSON MARCOS DE SOUZA é Doutorando em Engenharia Florestal, Bolsista do CNPq - CT-HIDRO - UFLA – Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 37 - Lavras, MG - 37.200-000 – E-mail: andermosouza@bol.com.br

DULCINÉIA DE CARVALHO é Professora do Departamento de Ciências Florestais da UFLA – Universidade Federal de Lavras - Caixa Postal 37 - Lavras, MG - 37.200-000 – E-mail: dulce@ufla.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574p.
- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 242p.
- BARROS, M.A.G. Flora medicinal do Distrito Federal. **Brasil florestal**, v.12, p.35-45, 1982.
- BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. **Informe agropecuário**, v.15, p.15-20, 1991.
- 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 Science, 1983. p.219-239.
- CARVALHO, D.A. Flora fanerogâmica de campos rupestres da Serra da Bocaina, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. **Ciência e prática**, v.16, p.97-122, 1992.
- COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, v.23, p.72-84, 1969.
- COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of gene flow from F-Statistics. **Evolution**, v.47, p.855-863, 1993.
- 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.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S., ed. **Plant population genetics, breeding and germoplasm resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p.43-63.
- 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: Dr. Junk Publications, 1986. p.211-223.
- KAGEYAMA, P.Y. Conservação In situ de recursos genéticos de plantas. **IPEF**, n.35, p.7-37, 1987.
- KAGEYAMA, P.Y.; BIELLA, L.C.; PALERMO Jr., A. Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. **Anais**. Campos do Jordão: SBS/SBEF, 1990. p.109-113.

- LACERDA, C.M.B. **Diversidade genética por isoenzimas em populações naturais de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Freire, F. & M.F. Allemão) Anacardiaceae no semi-árido.** Piracicaba, 1997. 96p. Tese (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data.** Version 1.0 (d15). Free program distributed by the authors over the internet from the GDA Home Page at <http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- MORAES, P.L.R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocaria moschata* Nees e Martius ex Nees (Lauraceae).** Rio Claro, 1997. 190p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências.
- NEI, M. **Molecular evolutionary genetics.** New York: Columbia University, 1987. 512p.
- OLIVEIRA, A.F. **Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas.** Lavras, 2000. 114p. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Lavras.
- OLIVEIRA FILHO, A.T.; SCOLFORO, J.R.S.; MELLO, J.M. Composição florística e estrutura comunitária de um remanescente de floresta semidecídua montana em Lavras, MG. **Revista brasileira de botânica**, v.17, p.167-182, 1994.
- REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmiteiro (*Euterpe edulis*).** Piracicaba, 1996. 209p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.
- SALVADOR, J.L.G. Comportamento de espécies florestais nativas em áreas de depleção de reservatórios. **IPEF**, n.33, p.73-78, 1986.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER R.B. BIOSYS-I: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. **Journal of heredity**, v.72, p.282-283, 1989.
- TORRES, R.B.; MATTHES, L.A.F.; RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO, H.F. Espécies florestais nativas para plantio em áreas de brejo. **O agrônomo**, v.44, p.13-16, 1992.
- VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequência alélicas. **Revista brasileira de genética**, v.15 (supl.1), p.53-60, 1992.