

Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.)

MARIA CAROLINA G. BOTREL¹ e DULCINÉIA DE CARVALHO^{1,2}

(recebido: 26 de setembro de 2003; aceito: 24 de junho de 2004)

ABSTRACT – (Isozymes variability in natural populations of “jacarandá paulista” (*Machaerium villosum* Vog.)). In order to determine the variability levels among and within natural populations of *Machaerium villosum*, the genetic structure and the population effective size were analyzed by isozymes. Leaf tissues from three natural fragmented populations were sampled. Thirty-five individuals from the population 2 (Subestação) and thirty individuals from the population 1 (Matinha) and 3 (Bom Sucesso) were sampled. Twenty-six alleles distributed in 10 loci were identified in the populations studied. The estimated diversity index for the three populations revealed average of 2.4 of alleles per locus. The observed medium heterozygosity was higher than the expected for the three populations, revealing an excess of heterozygotes. The proportion of polymorphic loci was 90% in the populations 1 and 2 and 100% in the population 3. The fixation index (\hat{f}) was negative to all populations. The genetic structure revealed on excess of heterozygotes for three populations ($\hat{F} = -0.121$). The genetic divergence between the populations was relatively small (0.061), revealing that 6.1% of the genetic variability found was between populations and 93.9% was within the populations. The effective size estimated for all populations was 32, 48 and 42 individuals respectively. In order to ensure the genetic variability during seed collection twenty-one individuals must be sampled.

Key words - effective size, Fixation index, isozyme, polymorphism

RESUMO – (Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.)). Com o intuito de determinar os níveis de variabilidade genética mantidos entre e dentro de populações, a estrutura genética e o tamanho efetivo populacional foram estudadas por meio da eletroforese de isoenzimas em populações naturais de *Machaerium villosum*. Foram amostrados tecidos foliares de três populações naturais fragmentadas, onde coletou-se 30 indivíduos adultos nas populações 1 e 3 (Matinha e Bom Sucesso) e 35 indivíduos na população 2 (Subestação). Foram identificados vinte seis alelos distribuídos em 10 locos. Os índices de diversidade estimados para as três populações revelaram média de 2,4 alelos por loco e heterozigidade média observada maior que a esperada para as três populações, revelando um excesso de heterozigotos. O polimorfismo foi de 90,0% nas populações 1 e 2 e de 100% na população 3. O índice de fixação (\hat{f}) foi negativo em todas populações. A estrutura genética revelou que há excesso de heterozigotos para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0.121$). A divergência genética entre as populações foi baixa (0,061), revelando que 6,1% da variabilidade genética encontram-se entre e 93,9% dentro das populações. O tamanho efetivo estimado para cada população foi de 32, 48 e 42 indivíduos, respectivamente. Para a coleta de sementes, este parâmetro indicou a amostragem de 21 matrizes, de forma a garantir a manutenção da variabilidade genética.

Palavras-chave - Índice de fixação, isoenzimas, polimorfismo, tamanho efetivo

Introdução

A exploração inadequada dos recursos naturais vem provocando a extinção de um grande número de espécies nos diferentes biomas do planeta, especialmente naqueles situados nos trópicos. Entre as várias causas dessas extinções, as mais comuns são a perda e a fragmentação de habitats. Em virtude de tal realidade, existe uma necessidade urgente de estudos genéticos ao nível populacional das espécies que compõem tais ecossistemas, pois pouco se sabe sobre as espécies ocorrentes, para que então possam ser estabelecidas

estratégias de manejo e conservação genética.

Poucas são as espécies estudadas do ponto de vista genético, sendo este tipo de estudo indispensável à conservação dos recursos da floresta tropical. Devido a restrições ao estudo de um grande número de espécies, tem-se procurado amostrar aquelas que o representem ou que sirvam de modelos para representar determinados biomas (Kageyama *et al.* 2003). Dentre essas, *Machaerium villosum* Vog, pertence à família Fabaceae, conhecido vulgarmente por Jacarandá-paulista, demonstra ser adequada para o estudo da estrutura genética de populações por apresentar distribuição ampla, reprodução predominantemente alógama, dispersão anemocórica, polinização por abelhas e classifica-se entre os estágios finais da sucessão (Giudice Neto 1999).

1. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Florestais, Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras, MG, Brasil.
2. Autor para correspondência: dulce@ufla.br

Considerando-se que no papel de reconstrução de florestas é importante que se mantenha o nível de variabilidade genética encontrado nas populações naturais, torna-se necessário, para a realização de um manejo florestal, estudos dos padrões de distribuição da variabilidade genética que ocorrem nos fragmentos florestais. Saber como essa variabilidade está partilhada dentro das populações é imprescindível, para que seus tamanhos não caiam abaixo do mínimo viável, comprometendo a perpetuação da espécie. Sendo assim, uma maneira muito utilizada para se conseguir detectar essa variabilidade é por meio de estudos da estrutura genética de populações naturais. Segundo Frankel (1983), o conhecimento dos níveis e da distribuição da variação genética dentro e entre populações torna-se pré-requisito para o estabelecimento de práticas conservacionistas efetivas e eficientes.

Uma ferramenta para esse tipo de estudo é a utilização da técnica de eletroforese de isoenzimas, que vem sendo muito utilizada na obtenção de informações em relação à quantificação da variabilidade genética em populações naturais.

Assim, no presente trabalho, três populações naturais de *Machaerium villosum* foram estudadas, a partir de eletroforese por isoenzimas, com o objetivo de quantificar a variabilidade genética entre e dentro de populações, visando a geração de subsídio para a adoção de estratégias de manejo e conservação genética.

Material e métodos

Neste estudo foram amostradas três populações naturais de *Machaerium villosum* localizadas em áreas distintas, no sul de Minas Gerais. A primeira população analisada encontra-se em um fragmento florestal, com área equivalente a 5,83 ha, localizado no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), sendo conhecido como “Matinha da UFLA”. O fragmento foi tombado como área de preservação permanente como Reserva Florestal da UFLA. Sua vegetação é classificada como Floresta Estacional Semidecidual Montana. A segunda população estudada, também localizada no campus da UFLA é um fragmento florestal que cobre uma área de 8,54 ha. A vegetação é classificada, fisionomicamente, como Floresta Estacional Semidecidual Montana, inserida no domínio da Mata Atlântica *sensu lato* (IBGE 1993, Veloso *et al.* 1991), sendo essa área escolhida devido ao seu bom estado de conservação. A terceira população está localizada na MG-335 que liga Macaia ao município de Bom Sucesso, com área de 2,5 ha aproximadamente, denominada Bom Sucesso. A primeira população está distante 1 km da segunda e 9 km da terceira e essa 8 km da segunda. Foram analisados 95 indivíduos adultos nas três populações,

sendo 35 na Subestação e 30 indivíduos nas populações da Matinha e Bom Sucesso. A amostragem foi aleatória ao longo dos três fragmentos, de forma a abranger toda área. Tecidos foliares de indivíduos reprodutivos foram coletados, sendo acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e colocados em caixa de isopor com gelo. Nas populações Matinha e Subestação as folhas foram coletadas no período de novembro e dezembro/2000 a janeiro/2001, enquanto em Bom Sucesso em julho/2001. Ao final de cada coleta, as folhas eram levadas para o Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos (DCF-UFLA), sendo então armazenadas em freezer a -18 °C, de modo a não permitir a degradação das enzimas.

O método de caracterização genética da espécie usado neste trabalho foi a eletroforese de isoenzimas, seguindo as técnicas mais comuns utilizadas, particularmente a metodologia descrita por Alfenas *et al.* (1991) e Alfenas (1998). Foram pesados 500 mg de tecido foliar, estes foram limpos e macerados com areia lavada, adicionando-se 5 mg de PVP-P e 1 mL da solução tampão de extração (tampão n.1 de Alfenas *et al.* 1991). A extração de enzimas foi realizada manualmente mediante ao uso de almofariz e pistilos de porcelana mantidos resfriadas durante o processo.

Foi utilizada eletroforese de isoenzimas vertical, conduzida em meio suporte de gel de poliácridamida (concentração - 4%, concentração - 12,5%). Para a eletroforese foi utilizada amperagem de 10 mA por gel, 300 Volts, tendo a corrida eletroforética duração aproximada de 3,5 horas, sendo realizada à temperatura de 4 °C. As revelações dos géis foram baseadas na metodologia descrita por Alfenas (1998). 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 foi efetuada no secador de gel (modelo 583, BioRad).

A interpretação dos zimogramas permitiu a obtenção dos genótipos de cada indivíduo, de modo a obter dados para a obtenção dos parâmetros de interesse. A identificação das zonas codificadoras dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais catódica para a mais anódica. Assim, em um sistema enzimático em que duas zonas de atividade eram claramente identificadas, a de maior migração no gel recebeu a denominação de loco-1 e a outra, loco-2. Da mesma forma, procedeu-se em relação aos alelos de cada loco. Realizada a genotipagem de cada indivíduo, foi possível estimar vários parâmetros que caracterizam a variabilidade genética entre e dentro das populações, a sua estrutura genética e o tamanho efetivo das populações. As frequências alélicas descrevem a variação para um loco e foram estimadas 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 é a frequência do alelo i , n_i o número de ocorrência do alelo i e n o número total de alelos amostrados. A partir das frequências alélicas foram estimados os índices de diversidade genética, tais como: heterozigosidade média observada (\hat{H}_o), heterozigosidade 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-2, desenvolvido por Swofford & Selander (1989).

A estrutura genética foi abordada a partir dos coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham 1969, Vencovsky 1992), 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 Genetic Data Analysis - GDA (Lewis & Zaykin 2000).

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. Portanto, fatores dinâmicos que afetam a distribuição das frequências alélicas devem ser levados em consideração, tais como, flutuações do tamanho populacional entre gerações, variação de fertilidade entre os indivíduos, estrutura de idades e sobreposição de gerações e tamanho de vizinhança (Frankel *et al.* 1995).

Para se estimar o tamanho efetivo populacional, foram utilizados métodos propostos por Vencovsky (1997), para duas diferentes situações. A primeira estimativa do \hat{N}_e para indivíduos adultos de uma simples população foi baseada na expressão $\hat{N}_e = n / (1 + f)$, onde n é o número de indivíduos e f o coeficiente de endogamia médio da população. A segunda estimativa do \hat{N}_e para várias populações, baseada na expressão $\hat{N}_e = \frac{0.5}{\hat{\theta}_p \left(\frac{1 + C_p}{m} - \frac{1}{n} \right) + \frac{1 + F}{2n}}$, onde:

$\hat{\theta}_p$ = 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.

Resultados e Discussão

Dos 21 sistemas enzimáticos (tabela 1) testados para o estabelecimento do protocolo para a espécie *Machaerium villosum*, foram escolhidos os seguintes: alfa-esterase (α -EST), fosfatase ácida (ACP), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), peroxidase (PO) e malato desidrogenase (MDH) por apresentarem bandas polimórficas e passíveis de interpretação. As frequências de 26 alelos de dez locos nas três populações naturais de *Machaerium villosum* são apresentadas na tabela 2. Houve uma grande variação

Tabela 1. Sistemas enzimáticos testados para *Machaerium villosum* Vog. E.C. = Enzyme Commission.

Table 1. Enzymatic systems tested for *Machaerium villosum* Vog. E.C. = Enzyme Commission.

Enzima	Sigla	Código (E.C.)
Álcool Desidrogenase	ADH	EC 1.1.1.1
Catalase	CAT	EC 1.11.1.6
Enzima Málica	ME	EC 1.1.1.40
α -Esterase	α -EST	EC 3.1.1.1
β -Esterase	β -EST	EC 3.1.1.1
Fosfatase Alcalina	ALP	EC 3.1.3.1
Fosfatase Ácida	ACP	EC 3.1.3.2
Fosfoglucomutase	PGM	EC 2.7.5.1
6-Fosfogluconato Desidrogenase	6PGDH	EC 1.1.1.44
Fosfogluose Isomerase	PGI	EC 5.3.1.9
β -Galactose Desidrogenase	β -GLDH	EC 1.1.1.48
Glucose Desidrogenase	GLUDH	EC 1.1.1.47
Glucose-6-Fosfato Desidrogenase	G6PDH	EC 1.1.1.49
Glutamato Desidrogenase	GDH	EC 1.4.1.3
Glutamato-Oxaloacetato	GOT	EC 2.6.1.1
Leucina Aminopeptidase	LAP	EC 3.4.11.1
Malato Desidrogenase	MDH	EC 1.1.1.37
Peroxidase	PO	EC 1.11.1.7
Sorbitol Desidrogenase	SDH	EC 1.1.1.14
Superóxido Dismutase	SOD	EC 1.15.1.1
Transaminase Isocitrato Desidrogenase	IDH	EC 1.1.1.42

nas frequências alélicas nos indivíduos analisados, desde a fixação de alelos até frequências muito baixas. Nos indivíduos da população Subestação foi encontrada baixa frequência para o alelo 2 do loco Got-1 (0,060) e ausência para o alelo 3 do loco α -Est 1, alelo 3 do loco Po 1, alelo 2 do loco Mdh 1 e alelo 3 do loco Mdh 3. Na população Matinha, os alelos que apresentaram baixas frequências foram: alelo 3 dos locos α -Est 1 e Po 1 (0,052 e 0,017). Ausências foram observadas para o alelo 2 do loco Mdh 1, alelo 3 do loco Mdh 3. Com relação à população Bom Sucesso, baixas frequências ocorreram nos alelos 3 dos locos α -Est 1 (0,056), α -Est 2 (0,045), Acp 1 (0,037), Po 1 (0,052) e Mdh 3 (0,042). Houve a fixação do alelo 1 da Mdh 1 nas populações Subestação e Matinha e em Bom Sucesso não se verificou fixação de alelos.

Alterações nas frequências alélicas entre populações podem ser indicativos de deriva genética. Essas alterações 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 pode ser evidenciada pela presença de alelos raros a uma das populações analisadas. A

análise das frequências alélicas é de grande importância, pois reflete os efeitos estocásticos mais adequadamente que a maioria dos parâmetros utilizados no estudo de genética de populações, uma vez que, alguns parâmetros como a heterozigidade observada, não refletem

Tabela 2. Frequências alélicas e tamanho da amostra (n) em 10 locos aloenzimáticos em três populações naturais de *Machaerium villosum* Vog.

Table 2. Alleles frequency and sample size (n) in 10 allozyme loci in three natural populations of *Machaerium villosum* Vog.

Loco	Populações			
	Alelo	Matinha	Subestação	Bom Sucesso
α- Est-1	1	0,241	0,456	0,593
	2	0,707	0,544	0,3552
	3	0,052	0,000	0,056
	n	29	34	27
α- Est-2	1	0,500	0,317	0,591
	2	0,313	0,317	0,364
	3	0,188	0,367	0,045
	n	24	30	22
Acp-1	1	0,333	0,443	0,500
	2	0,483	0,400	0,463
	3	0,183	0,157	0,037
	n	30	35	27
Acp-2	1	0,683	0,686	0,536
	2	0,317	0,314	0,464
	n	30	35	28
	Got-1	1	0,517	0,520
2		0,276	0,060	0,214
3		0,207	0,420	0,411
n		29	25	28
Got-2	1	0,518	0,760	0,464
	2	0,482	0,240	0,536
	n	28	25	28
	Po-1	1	0,367	0,400
2		0,617	0,600	0,534
3		0,017	0,000	0,052
n		30	35	29
Mdh-1	1	1,000	1,000	0,483
	2	0,000	0,000	0,517
	n	35	30	29
	Mdh-2	1	0,683	0,671
2		0,317	0,329	0,466
n		30	35	29
Mdh-3		1	0,383	0,273
	2	0,617	0,727	0,479
	3	0,000	0,000	0,042
	n	30	33	24
Total de alelos	26	24	22	26

diretamente frequências alélicas eventualmente muito baixas. Souza (1997) concluiu que para *Chorisia speciosa* A.St.-Hil. os parâmetros comumente utilizados para a caracterização da variabilidade genética (H_o , H_e , P e A) muitas vezes não conseguem mostrar perda de alelos, não sendo bons indicadores de deriva genética, sendo indicado então a análise direta dos dados de frequência alélica.

Os parâmetros estimados a partir das frequências alélicas de dez locos isoenzimáticos para avaliar a variabilidade genética estão apresentados na tabela 3. A porcentagem de locos polimórficos (\hat{p}) foi de 90,0% para duas populações, Subestação e Matinha, enquanto para população de Bom Sucesso essa porcentagem foi de 100%. Comparando-se a espécie estudada com outras, observa-se que esta possui valores de \hat{P} próximos ao encontrado em *Eucalyptus urophylla* (77,8%) estudada por Corder *et al.* (1996), superiores aos encontrados por Kawaguici & Kageyama (2001) em *Calophyllum brasiliense* (42,86%) e em *Genipa americana* no estudo realizado por Sebbenn *et al.* (1998) onde \hat{P} foi 50%. Giudice Neto (1999), estudando essa mesma espécie, *M. villosum*, observou valores de \hat{P} bem semelhantes, variando de 90% a 100%. Os resultados obtidos pela análise da porcentagem de locos polimórficos mostram que *M. villosum* apresenta um alto polimorfismo, o que torna estas populações favoráveis à conservação genética. Em relação ao número de alelos por loco, houve valores médios iguais a 2,2 (Subestação), 2,4 (Matinha) e 2,6 (Bom Sucesso), valores não diferentes entre si, a julgar pelo desvio padrão.

As heterozigosidades médias observadas foram maiores que as esperadas em todas as populações de *M. villosum*, evidenciando uma tendência de excesso de heterozigotos em relação ao EHW. O índice de fixação de cada população foi negativo e alto, sendo -0,068 para Matinha, -0,285 para a Subestação e -0,287 para Bom Sucesso, sugerindo que esteja ocorrendo seleção para heterozigotos nestas populações. Lacerda *et al.* (1999), estudando duas populações de *Myracrodruon urundeuva*, observaram valores próximos (-0,333 e -0,301) aos encontrados para *M. villosum*.

O termo estrutura genética de populações, será aqui utilizado como sinônimo da distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. Na tabela 4 são apresentados os coeficientes de coancestralidade do Cockerham (Cockerham 1969, Vencovsky 1992) para as três populações de *M. villosum*, onde \hat{f} é o índice de fixação médio dentro das populações, \hat{F} é o índice de

Tabela 3. Índices de diversidade genética de três populações naturais de *Machaerium villosum* Vog., baseados em 10 locos e 5 sistemas enzimáticos. Os valores entre parênteses equivalem ao erro padrão.

Table 3. Indexes of genetic diversity of three populations of *Machaerium villosum* Vog., determined by 10 loci and five isozymes systems. () = standard error.

Índices de diversidade genética	Populações		
	Matinha	Subestação	Bom Sucesso
Tamanho médio da amostra por loco (<i>n</i>)	28,90	32,45	27,10
Número médio de alelos por locos (<i>A</i>)	2,4 (0,2)	2,2 (0,2)	2,6 (0,2)
Porcentagem de locos polimórficos (\hat{P})	90,0	90,0	100,0
Heterozigosidade média observada (\hat{H}_o)	0,501 (0,078)	0,581 (0,081)	0,694 (0,093)
Heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e)	0,469 (0,058)	0,452 (0,059)	0,539 (0,014)
Índice de Fixação (\hat{f})	-0,068	-0,285	-0,287

fixação para o conjunto das populações, $\hat{\theta}_p$ é a divergência genética entre populações. Estes parâmetros são correspondentes às estimativas \hat{F}_{IS} , \hat{F}_{IT} e \hat{F}_{ST} de Wright (1951). A estimativa da endogamia para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0,121$) indica excesso de heterozigotos. A estimativa da endogamia média dentro das populações (\hat{f}) mostra alta heterozigose (-0,194); isto sugere que, em média, as populações não são endogâmicas.

A divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) foi relativamente baixa (0,061), isto significa que 6,1% da

Tabela 4. Índices de fixação e coeficiente de coancestralidade entre três populações de indivíduos adultos de *Machaerium villosum* Vog. Valores entre colchetes equivalem aos intervalos de confiança.

Table 4. Fixation index and coancestry coefficient among three populations of *Machaerium villosum* Vog. [] = confidence interval.

Parâmetros	Estimativas
Índice de fixação médio dentro das populações (\hat{f})	-0,194 [-0,41 a -0,035]
Índice de fixação para o conjunto das populações (\hat{F})	-0,121 [-0,31 a 0,055]
Divergência genética entre as populações ($\hat{\theta}_p$)	0,061 [0,02 a 0,133]

variabilidade genética encontra-se entre e que 93,9% desta, encontra-se dentro das populações. Kageyama *et al.* (2003) também observaram uma baixa divergência genética entre as populações de *Ocotea odorifera*, onde encontrou um $\hat{\theta}_p$ de 0,028, mostrando que a maior diversidade se encontra dentro das populações.

As populações, no presente estudo, apresentaram variabilidade genética alta dentro e baixa entre populações. Segundo Loveless & Hamrick (1984), as espécies tipicamente alógamas apresentam variabilidade genética alta dentro de populações. A divergência entre populações é reduzida com o aumento do fluxo gênico (pólen e/ou sementes).

A análise da estrutura genética em cada par de população (tabela 5), mostrou baixa divergência entre as mesmas. Os maiores valores foram encontrados para as populações Matinha Bom e Sucesso (0,075) e Subestação e Bom Sucesso (0,089) quando comparadas às populações da Matinha e Subestação (0,022). Isto indica que as populações da Matinha e Subestação são mais similares entre si e divergentes da população de Bom Sucesso. Este resultado é coerente, visto que essas duas populações se encontram geograficamente mais próximas (1 km). No entanto, sabendo que a espécie em estudo apresenta dispersão anemocórica, baseado na forma, estrutura e dimensão dos propágulos que permitem a dispersão das sementes pelo vento, acredita-se que este quadro pode se alterar no futuro.

Tabela 5. Divergência genética ($\hat{\theta}_p$) para pares de populações. Valores entre colchetes correspondem aos intervalos de confiança.

Table 5. Genetic diversity ($\hat{\theta}_p$) between the populations. [] = confidence interval.

Populações	$\hat{\theta}_p$
Matinha e Sub estação	0,022 [0,0020 a 0,045]
Matinha e Bom Sucesso	0,075 [0,0120 a 0,173]
Sub estação e Bom Sucesso	0,089 [0,0281 a 0,180]

A partir da estimativa de \hat{N}_e (tabela 6) pode-se pressupor que os 30 indivíduos adultos amostrados na população da Matinha, os 35 na Subestação e os 30 em Bom Sucesso, representariam geneticamente 32, 49 e 42 indivíduos, 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

Tabela 6. Tamanho efetivo (\hat{N}_e) e número de indivíduos (n) de três populações naturais de *Machaerium villosum* a partir de dados de indivíduos adultos das populações.

Table 6. Effective size (\hat{N}_e) and individuals number (n) in three natural populations of *Machaerium villosum*.

População	n	\hat{N}_e
Matinha	30	32
Sub estação	35	49
Bom Sucesso	30	42
Conjunto das populações	95	21

amostrados. Os heterozigotos, por carregarem sempre dois alelos distintos, representam um maior número de indivíduos na população e em todas para as populações analisadas, foi observada alta heterozigosidade.

Vencovsky (1987) afirma que, para a maximização das atividades de coleta de sementes, é importante 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 *M. villosum*, recomenda-se amostragem em pelo menos 21 árvores matrizes (tabela 6), para que se garanta a manutenção da variabilidade genética nas sementes. No enriquecimento da vegetação ou recuperação de áreas, a coleta de sementes a partir deste princípio proporcionará infinitas novas recombinações genotípicas na população, elevando seu potencial evolutivo. As informações obtidas deste estudo nos auxiliarão em projetos de manejo e conservação genética de *M. villosum*.

Agradecimentos – Expressamos a nossa gratidão ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor e pela bolsa de Produtividade concedida ao segundo autor (Proc. n. 300542/89-5).

Referências bibliográficas

- ALFENAS, A.C. 1998. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ALFENAS, A.C., PETERS, I., BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. 1991. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- COCKERHAM, C.C. 1969. Variance of gene frequencies. *Evolution* 23:72-84.
- CORDER, M.P.M., MORI, E.S., KAGEYAMA, P.Y. & LOPES, C.R. 1996. Estudo da Variabilidade isoenzimática em *Eucalyptus urophylla* das ilhas flores. *Scientia Forestalis* 50:43-49.
- FRANKEL, O.H. 1983. The place of management in conservation. *In* Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations. (C.M. Schonewaldcox, S.M. Chambers, B. MacBryde & W.L. Thomas, eds.). The Benjamin/Cumming Pub. Company, Menlo Park, p.1-14.
- FRANKEL, O.H., BROWN, A.H.D. & BURDON, J.J. 1995. The conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge.
- GIUDICE NETO, J.D. 1999. Estrutura genética por isoenzimas em populações naturais de Jacarandá Paulista (*Machaerium villosum* Vog.). Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- IBGE. 1993. Mapa de vegetação do Brasil, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.
- KAGEYAMA, P.Y., SEBBENN, A.M., RIBAS, L.A., GANDARA, F.B. CASTELLEN, M., PERECIM, M.B. & VENCOVSKY, R. 2003. Diversidade genética em espécies tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. *Scientia Forestalis* 64:93-107.
- KAGEYAMA, P.Y., CUNHA, G.C., BARRETO, K.D., GANDARA, F.B., CAMARGO, F.R.A. & SEBBENN, A.M. 2003. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). *Scientia Forestalis* 64:108-119.
- KAWAGUCHI, C.B. & KAGEYAMA, P.Y. 2001. Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* em uma população de mata de galeria. *Scientia Forestalis* 59:131-143.
- LACERDA, C.M.B., KAGEYAMA, P.Y. & FERRAZ, E.M. 1999. Diversidade isoenzimática em *Myracrodruon urundeuva* em duas situações antrópicas no semi-árido. *Scientia Forestalis* 55:89-95.
- LEWIS, P.O. & ZAYKIN, D. 2000. 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> (acesso em 11/09/2002).
- LOVELESS, M.D. & HAMRICK, J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:65-95.

- MORAES, P.L.R. 1997. Estrutura genética de população de *Cryptocarya moschata* Nees e Martius ex Nees (Lauraceae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro.
- SEBBENN, A.M., KAGEYAMA, P.Y. & VENCOVSKY, R. 1998. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. *Scientia Forestalis* 53:15-30.
- SOUZA, L.M.F.I. 1997. Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP) – Brasil. Tese de doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- SWOFORD, D.L. & SELANDER, R.B. 1989. BIOSYS 1: A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. Natural History Survey, Illinois.
- VELOSO, H.P., RANGEL FILHO, A.L.R. & LIMA, J.C.A. 1991. Classificação da Vegetação Brasileira. Adaptada a um Sistema Universal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.
- VENCOVSKY, R. 1987. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. *Revista IPEF* 35:79-84.
- VENCOVSKY, R. 1992. Análise de Variância de Frequências Alélicas. *Revista Brasileira de Genética* 15:53-60.
- VENCOVSKY, R. 1997. Biometrical approaches for molecular markers estimation of effective population size. *In Proceedings of the International Workshop on Agricultural Biotechnology*. Esalq/USP, Piracicaba, p.233-234.
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annual of Eugenics* 15:313-354.

