

Diversidade genética de três grupos de indivíduos
(adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense*
em uma população de mata de galeria

Genetic diversity of three groups of individuals
(adults, young and seedlings) of *Calophyllum brasiliense*
in a population of gallery forest

Cristina Borges Kawaguici
Paulo Yoshio Kageyama

RESUMO: Com intuito de investigar a variabilidade genética de uma espécie comum, mas com restrição ambiental, foi estudada uma população de *Calophyllum brasiliense*, espécie que ocorre apenas em áreas onde existe saturação hídrica do solo, em 3 grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas). A população estudada está situada na mata de galeria da Estação Ecológica do Panga (Uberlândia, MG), distribuída ao longo do Córrego do Panga que constitui o limite norte da reserva. A partir da análise de eletroforese de isoenzimas, foram analisados 30 indivíduos adultos, 30 indivíduos jovens e 100 plântulas de *C. brasiliense*. Foram obtidos 22 alelos distribuídos entre 14 locos isoenzimáticos, sendo que 8 eram monomórficos e 6 polimórficos. As frequências alélicas entre os grupos oscilaram de forma aleatória, o que não permitiu inferir sobre ocorrência de seleção de um grupo de indivíduos para outro. Os índices de diversidade estimados para a população revelaram baixo número de alelos por loco ($A_{plântulas} = 1,71$; $A_{jovens} = 1,57$ e $A_{adultos} = 1,64$). A porcentagem de locos polimórficos foi de $P = 42,86\%$, sendo este valor semelhante aos valores comumente encontrados para espécies raras. A heterozigiosidade média esperada foi maior que a observada em todos os grupos. Os valores de heterozigiosidade média observada são respectivamente para plântulas, jovens e adultos de 0,191; 0,138 e 0,141, portanto, a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro do grupo de plântulas. O índice de fixação (f) foi positivo para plântulas (0,084), jovens (0,264) e adultos (0,372), mostrando-se mais pronunciado nos adultos. Esse alto índice de fixação pode estar ocorrendo nesse grupo, devido à área de estudo ter sido colonizada recentemente ou então, os indivíduos adultos estão mais adaptados ao estabelecimento em áreas alagadas, desta forma, estaria havendo seleção de plântulas para o estabelecimento de indivíduos adultos, em favor de homozigotos.

PALAVRAS-CHAVE: Diversidade genética, Isoenzima, População, Restrição ambiental, *Calophyllum brasiliense*

ABSTRACT: In order to investigate the genetic variability of a common forest species, a population of *Calophyllum brasiliense* was studied in the gallery forest of the Panga Ecological Station, Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil. This is a tree species that occurs only on water

saturated soil distributed along the Panga River, the northern limit of station. Three groups of individuals (adults, youth and seedlings) were studied separately. Analyses of isozyme electrophoresis were carried out for 30 adult individuals, 30 youths and 100 seedlings of *Calophyllum brasiliense*. It was obtained 22 alleles distributed in 14 enzymatic loci, 8 of which were monomorphic and 6 polymorphic. Allelic frequencies varied randomly, which did not allow inferences on the occurrence of selection from each individual group to another. The diversity indexes estimated for the population revealed a small number of alleles for each locus ($A_{\text{seedlings}} = 1,71$; $A_{\text{young}} = 1,57$ and $A_{\text{adults}} = 1,64$). The percentage of polymorphic loci was $P = 42,86\%$, a value that is similar to the values commonly found for rare species. The expected mean heterozygosity was larger than that observed in all groups. The observed values for mean heterozygosity are 0,191; 0,138 and 0,141, respectively for seedlings, youths and adults. Hence, most of genetic variability occurs among seedlings. The fixation index was positive for seedlings, youths and adults. This index was higher for the adults, may be because the study area has been colonized recently or the adult individuals are more adapted to the establishment in flooded areas. In the later case, there would be going on a seedling selection for individual establishment ability, which would favor homozygotes.

KEYWORDS: Genetic diversity, Isozyme, Population, Environmental restriction, *Calophyllum brasiliense*

INTRODUÇÃO

Calophyllum brasiliense Camb. é uma espécie característica e exclusiva das florestas pluviais, localizadas sobre solos úmidos e brejosos. É capaz de crescer virtualmente dentro da água e até em áreas de mangue (Lorenzi, 1992). A condição hídrica do local é um dos fatores que influenciam a distribuição de seus indivíduos. A capacidade de *C. brasiliense* desenvolver-se normalmente em locais de saturação hídrica faz com que a espécie tenha vantagens sobre outras espécies, o que representa uma distribuição concentrada em regiões mais úmidas (Fischer, 1990; Schiavini, 1992; Marques, 1994 e Kawaguici, 1994). A *C. brasiliense* é uma espécie de grande ocorrência em matas de galeria.

Pouco se conhece sobre as espécies ocorrentes e estrutura e funcionamento desses ambientes florestais. Desta forma, há necessidade de estudos intensivos, a fim de escolher corretamente as estratégias de manejo e conservação a serem implantadas.

São raros os casos de espécies estudadas do ponto de vista genético, sendo estes indispensáveis à exploração racional, à recuperação e, principalmente, à conservação dos recursos

da floresta tropical. Estes estudos são importantes para que não ocorra a perda de sua diversidade genética natural, permitindo que suas populações mantenham-se vivas e reprodutivas no ciclo evolutivo da seleção natural.

Uma das principais ferramentas desses estudos consiste no estudo da estrutura genética das espécies de ecossistemas de matas galeria, que são fundamentais para o estabelecimento de critérios adequados de amostragem das populações para serem utilizados na recomposição dessas matas, objetivando a manutenção de sua diversidade, para entender não só a diversidade das espécies desses ecossistemas, como também a variação genética entre e dentro de suas populações (Kageyama et al., 1989).

Uma boa ferramenta para esse estudo é a utilização da técnica de eletroforese de isoenzimas, que é de grande utilidade para a obtenção de informação genética referente a indivíduos de populações naturais.

A utilização da eletroforese de isoenzimas para descrever a distribuição da variação genética em populações naturais, apresenta inúmeras vantagens: a) a herança genética dos traços detectados eletroforeticamente podem ser facil-

mente demonstradas; b) a maioria dos locos alozimáticos é codominante e as frequências alélicas podem ser calculadas sem a necessidade de cruzamentos genéticos; c) a estimativa da variação genética pode ser comparada diretamente entre populações ou espécies (Hamrick et al., 1979).

Utilizando-se da técnica de isoenzimas, autores como Hamrick et al. (1979), Hamrick (1983, 1987), Hamrick e Loveless (1986, 1989), Hamrick e Murawski (1991), Loveless e Hamrick (1987), Buckley et al. (1988) para *Bertholletia excelsa*, Moraes (1993) para *Myracrodruon urundeuva*, Gandara (1996) com *Cedrela fissilis* Veel., Liengsiri et al. (1995) com *Pterocarpus macrocarpus* Kurz., dentre outros, têm estudado a estrutura genética de espécies arbóreas de florestas tropicais.

Neste contexto, propõe-se estudar uma população de *Calophyllum brasiliense* Camb. (guanandi), em Mata de Galeria, na Estação Ecológica do Panga (Uberlândia, MG), usando-se para tal o método de eletroforese de isoenzimas. Procurou-se obter informações so-

bre a estrutura genética de 3 grupos de indivíduos dessa população (adultos, jovens e plântulas), verificando-se o conjunto de adultos, jovens e plântulas podem ser divergentes e se um processo de seleção está ocorrendo.

Considera-se que este estudo possa servir como modelo para espécies de ampla distribuição em ambiente restrito onde há saturação hídrica, onde a *C. brasiliense* é muito comum. Este estudo pode ser também a chave no estabelecimento de estratégias de conservação dessas comunidades, assim como inferir corretamente sobre os métodos de manejo a serem aplicados para a conservação da floresta tropical.

Foi objetivo desse trabalho quantificar e comparar a variabilidade genética de uma população de *C. brasiliense* em 3 grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas), levando em consideração a restrição ambiental da espécie, ou seja, ocorrência exclusiva em áreas alagadas, em mata de galeria na região do Triângulo Mineiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de campo foi realizado na mata de galeria da Estação Ecológica do Panga, que compreende uma área de 403,85 hectares, localizada no sul do município de Uberlândia, MG (Figura 1).

A Mata de Galeria está distribuída principalmente ao longo do Córrego do Panga que constitui o limite norte da reserva e, em menor escala, nos canais de drenagem e pequenos córregos existentes na porção sudeste da reserva. Ocupa os vales de canais de drenagem bem marcados, ou cabeceiras de nascentes sempre associadas a solos bastante úmidos e, algumas vezes, encharcados (Schiavini e Araújo, 1989).

A Mata de Galeria possui cerca de 5 hectares em todo seu limite e extensão e *C. brasiliense* é uma espécie muito comum (230

indivíduos adultos por hectare) na área de estudo.

Foram coletados indivíduos adultos (Indivíduos que apresentam acima de 15cm de CAP), jovens (Indivíduos que apresentam de 7 a 15cm de CAP) e plântulas (Indivíduos que apresentam até 7cm de diâmetro e maiores que 30cm de altura) de *Calophyllum brasiliense*. Com essa metodologia foi possível analisar indivíduos de vários estratos da população estudada.

A amostragem dos indivíduos na área de estudo foi aleatória, os indivíduos foram marcados numa extensão de 100m à margem do Rio Panga e em todo seu limite (de um lado o Rio Panga e de outro uma faixa de campo úmido). Foram marcados 30 indivíduos adultos, 30 jovens e 100 plântulas da espécie.

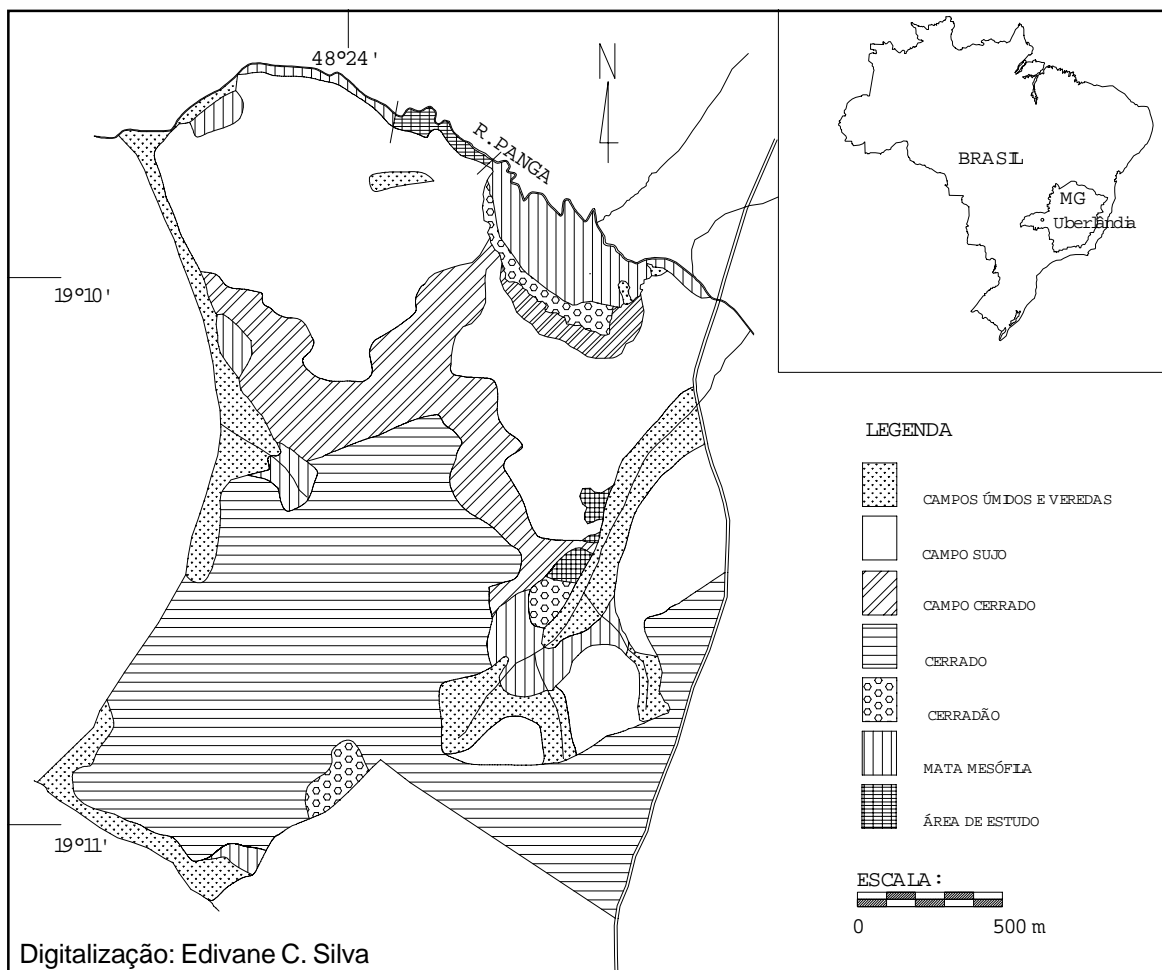


Figura 1. Mapa de localização da Estação Ecológica do Panga, no município de Uberlândia, MG. Destaque para a cobertura vegetal e localização da área de estudo.

(Localization map of the Ecological Station of Panga, at Uberlândia, MG. Prominence to the vegetable coverage in the study area).

A coleta das folhas foi realizada na parte da manhã, quando a temperatura era mais amena e a umidade no material vegetal, maior. Envolveram-se as folhas em jornal, as quais foram colocadas em sacos plásticos numerados e inseridas no isopor com o gelo, em saco plástico, isolado por um jornal. Após a coleta de todos os indivíduos transferiu-se o material para ESALQ/USP, onde foram preparados para eletroforese no Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas (LARGEA).

Foi definido o protocolo para os sistemas enzimáticos de *C. brasiliense*, baseado em Alfenas et al. (1991), com adaptações para espécies arbóreas tropicais estudadas pelo grupo de pesquisadores do LARGEA/ESALQ/USP. Nas corridas de eletroforese com *C. brasiliense*, buscaram-se sistemas isoenzimáticos que apresentassem boa resolução para uma posterior análise dos resultados.

A extração das enzimas foi feita através da maceração de aproximadamente 20mg de tecidos.

do de limbo foliar em placas de porcelana resfriadas, utilizando-se cerca de 10mg de areia lavada, Polyvinylpyrrolidone e Polyvinylpolyrrolidone e 200µl de solução de extração 1 citada por Alfenas et al. (1991) e modificada por Gandara (1996).

A análise estatística dos dados foi obtida a partir do programa BIOSYS-2, desenvolvido por Swofford e Selander (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para obtenção dos dados genéticos foi definido um protocolo adequado para estudos isoenzimáticos de *C. brasiliense*, foram escolhidos 8 sistemas isoenzimáticos e 2 sistemas de tampão gel/eletrodo, mostrados na Tabela 1.

A interpretação genética dos zimogramas obtidos para os oito sistemas enzimáticos utilizados no presente trabalho é apresentada esquematicamente na Figura 2.

Obtiveram-se 22 alelos, distribuídos entre os 14 locos isoenzimáticos, sendo que 8 eram monomórficos e 6, polimórficos.

As freqüências alélicas oscilaram nos locos polimórficos entre os diferentes grupos, de completa fixação, como no caso do alelo 1 dos locos Prx-1, Got-1, Got-2, Got-3, Acp-1, Acp-2, Acp-3 e Lap-1, igualmente nos adultos, jovens e plântulas, até frequências muito baixas, como no caso alelo 2 do loco Prx-1 (0,033 dos adultos), considerados alelos raros.

As maiores freqüências alélicas foram, respectivamente, para plântulas, jovens e adultos, do alelo 3 do loco Mdh-1, alelo 1 dos locos 6Pgdh-1, Pgi-1 e Lap-2. No loco Prx-2 os alelos mais freqüentes foram 1 nas plântulas e jovens e o alelo 3 nos adultos; no loco Skdh-1 o alelo mais freqüente foi o 1 das plântulas e alelo 2 dos jovens e adultos.

A variação nas freqüências alélicas entre os diferentes grupos pode ter várias origens, tais como: migração, mutação, seleção e deriva genética. A migração de indivíduos de outras populações, a partir de sementes, ou através de pó-

Foram determinadas as freqüências alélicas e os índices de diversidade genética, que incluem a heterozigosidade média observada (Nei, 1972), a heterozigosidade média esperada (Nei, 1977), o número médio de alelos por loco (Hamrick et al, 1979), a porcentagem de locos polimórficos (Hamrick et al, 1979) e o índice de fixação (Vencovsky, 1994).

Tabela 1. Protocolo utilizado para o estudo com *Calophyllum brasiliense*.

(Protocol used to a study in *Calophyllum brasiliense*)

Enzima	Sistema Tampão		Nº de locos Observados
	Gel/	Eletrodo	
6PGDH	H		1
MDH			1
PO			2
SKDH			1
PGI	TCB		1
GOT			3
LAP			2
ACP			3

H= Histidina (Stuber et al., 1988)

TCB= Tris Citrato Borato (Alfenas et al., 1991)

len, poderia facilmente causar alterações nas freqüências alélicas dos diferentes grupos. Infelizmente, como não se têm dados genéticos de outras populações potencialmente aptas a troca de genes como neste estudo, não é possível testar esta hipótese. Da mesma forma, a presença de mutação também não é possível de ser testada, devido à natureza do delineamento experimental.

No caso da seleção, a detecção de sua presença fere um dos pressupostos básicos dos marcadores bioquímicos (isoenzimas): sua natureza é neutra, portanto, não confere nenhuma vantagem seletiva. Desta forma, poder-se-ia especular, no caso da seleção, dizendo que os locos isoenzimáticos estariam ligados a locos que estão sob forte seleção. A seleção poderia atuar

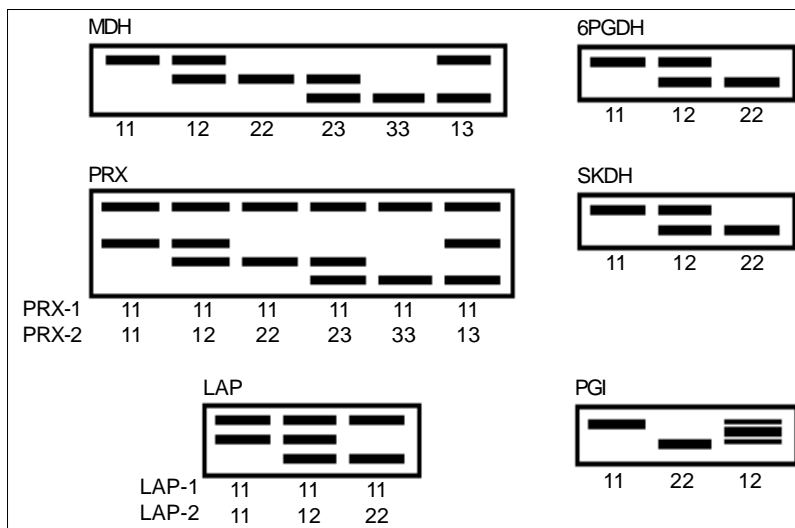


Figura 2. Interpretação genética dos zimogramas dos sistemas enzimáticos polimórficos utilizados no estudo de Plântulas, Jovens e Adultos de uma população de *C. brasiliense*.

(Genetic interpretation of the schemes in the enzymatic polymorphic systems used in the study of seedlings, youths and adults of the *C. brasiliense*).

a favor de alelos, mas só seria satisfeita para os locos *Skdh-1* e *Pgi-1*, nos quais as frequências alélicas da Tabela 2 mostram um aumento gradual da frequência do alelo 2, da fase de plântula para a fase adulta.

Entretanto, este conjunto de dados não permite afirmar com certeza se está ocorrendo seleção, entre a fase de plântula e a fase adulta. Os dados obtidos, de forma geral, sugerem muito mais a presença de deriva genética. A hipótese de deriva genética, seria explicada para quatro dos seis locos polimórficos avaliados, *Mdh-1*, *Prx-2*, *6Pgdh-1* e *Lap-2*, onde as frequências dos alelos oscilaram de grupo para grupo. Por exemplo, o alelo 1 no loco *Mdh-1* aumentou sua frequência de 0,200 no grupo de plântulas para 0,250 no grupo de jovens, vindo a cair para 0,217 no grupo de adultos. Neste mesmo loco, o alelo 3 baixou sua frequência de 0,485 nas plântulas para 0,450 nos jovens, vindo a subir para 0,550 nos adultos. Outro exemplo, seria o do alelo mais freqüente no loco *Prx-2*; onde o alelo 1 foi o mais freqüente no grupo de plântulas e jovens e o alelo 3, no grupo de adultos. Nos locos *6Pgdh-1* e *Lap-2*, também têm-se fortes evidências de deri-

va genética entre os grupos, onde o alelo 1 aumentou sua frequência do grupo de plântulas para jovens, vindo a decrescer para uma frequência próxima a meio no grupo de adultos. A deriva pode ter origem no tamanho amostral utilizado para caracterizar os grupos, ou ser intrínseca à própria natureza da população, devido a eventos casuais, tais como, o seu histórico de colonização, extinção, predação, emigração, entre outros.

Indivíduos entre a fase de jovens e adultos estariam mais sujeitos à deriva genética, devido a eventos casuais como, catástrofes ambientais, processos intrínsecos à dinâmica da floresta, como abertura de clareiras, causando a morte de um grande número de indivíduos jovens no sub-bosque ou permitindo o desenvolvimento de alguns indivíduos, devido à maior disponibilidade de luz.

Um outro ponto a ser considerado na hipótese de deriva seria que o número de indivíduos na fase de plântula é maior que o número de indivíduos jovens, que por sua vez é maior que o número de indivíduos adultos. Considerando que a amostragem aqui realizada não respeitou esta

Tabela 2. Frequências alélicas para 6 locos isoenzimáticos polimórficos detectados em *C. brasiliense*.
(Allelic frequencies to 6 loci isoenzymatics polymorphycs detected in *C. brasiliense*)

Loco	Alelos	Plântulas	Jovens	Adultos	χ^2	GL
Mdh-1	1	0,200	0,250	0,217		
	2	0,315	0,300	0,233		
	3	0,485	0,450	0,550		
	N	100	30	30	1,32 ns	4
Prx-1	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Prx-2	1	0,490	0,733	0,450		
	2	0,170	0,083	0,033		
	3	0,340	0,183	0,517		
	N	100	30	30	15,02	4
6Pgdh-1	1	0,582	0,817	0,563		
	2	0,418	0,183	0,438		
	N	100	30	30	6,91 *	2
Skdh-1	1	0,583	0,450	0,350		
	2	0,462	0,550	0,650		
	N	100	30	30	4,55 *	2
Pgi-1	1	0,760	0,600	0,500		
	2	0,240	0,400	0,500		
	N	100	30	30	10,20 *	2
Got-1	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Got-2	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Got-3	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Acp-1	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Acp-2	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Acp-3	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Lap-1	1	1,000	1,000	1,000		
	N	100	30	30	0,00	
Lap-2	1	0,805	0,867	0,533		
	2	0,195	0,133	0,467		
	N	100	30	30	11,48 *	2
Total de Alelos		22	22	22		

ns: não significativo; *:5%; **: 1%. N: Tamanho da Amostra.

“pirâmide social”, caracterizando os jovens e os adultos com um mesmo tamanho amostral ($N=30$), isso poderia ter causado deriva devido à amostragem ineficiente dos indivíduos jovens. Especulando esta possibilidade e comparando as frequências alélicas apenas entre plântulas e adultos, desprezando-se os jovens, têm-se indicativos da presença de seleção em favor de alelos em todos os locos polimórficos. No loco Mdh-1 os alelos 1 e 3 estariam sendo favorecidos, no loco Prx-2 o alelo 3 seria o favorecido e nos locos 6Pgdh-1, Skdh-1, Pgi-1 e Lap-2 o alelo 2 seria o favorecido.

A hipótese de seleção contra heterozigotos parece, à primeira vista, um tanto incoerente, ainda mais se se considerar muitos dos trabalhos na literatura, que postulam justamente o contrário, seleção em favor de heterozigotos. Sempre se pensa nas vantagens do heterozigoto, que carrega dois alelos diferentes, aumentando a plasticidade genética das espécies. Contudo, dado que o *C. brasiliense* ocorre em um ambiente restrito, a seleção poderia estar ocorrendo favorecendo os alelos ou combinações genotípicas mais favoráveis a esse ambiente. Segundo Kimura (1982), mesmo sendo os alelos neutros equivalentes funcionalmente para as espécies sob um grupo de condições ambientais determinadas, é possível que alguns deles possam ser selecionados, quando novas condições ambientais são impostas, ou seja, alelos neutros têm um potencial latente para a seleção, e mutações neutras podem ser uma matéria pri-

ma para a evolução adaptativa. Assim, pensar-se-ia que, de modo geral, os genótipos homozigotos estão sendo favorecidos pelo ambiente para o estabelecimento na população. Contudo, deve ter-se em mente que os grupos foram caracterizados geneticamente de forma fragmentada e não seqüencialmente, ou seja, as plântulas não deram origem aos jovens e nem estes aos adultos. Na verdade, uma grande parte das plântulas e dos jovens deve ter sido originada do cruzamento entre os adultos.

A melhor hipótese para a variação nas frequências alélicas entre os grupos seria que os adultos deram origem ao maior número de plântulas, possivelmente com a contribuição do fluxo de genes via pólen de outras populações.

As estimativas dos parâmetros de diversidade genética, para os 3 grupos de *C. brasiliense*, são muito semelhantes entre si e estão em torno das médias das populações de espécies arbóreas já estudadas (Tabela 3).

A heterozigosidade observada (H_o) desta população de *C. brasiliense*, considerando todos os locos foram, respectivamente, para plântulas, jovens e adultos, de $0,191 \pm 0,068$; $0,138 \pm 0,055$ e $0,141 \pm 0,054$. Verifica-se que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro do grupo de plântulas. A diversidade genética ou heterozigosidade esperada (H_e), foi maior que a H_o , mostrando o excesso de homozigoto. Porém, estes valores não são estatisticamente diferentes entre si, a julgar pelo seu erro padrão da média.

Tabela 3. Variabilidade genética de uma população de *C. brasiliense* com base em 14 locos e 8 sistemas enzimáticos (os valores entre parênteses equivalem ao erro padrão da média).

(Genetic variability in a population of *C. brasiliense* with base in 14 loci and 8 enzymatic systems (the values among parenthesis are equal to the standart mistake of average).

	Plântulas	Jovens	Adultos
Tamanho da amostra	100	30	30
Número médio de alelos por loco	1,71 (0,24)	1,57 (0,20)	1,64 (0,20)
Porcentagem de locos polimórficos (0,95)	42,86	42,86	42,86
Heterozigozidade média observada (H_o)	0,191 (0,068)	0,138 (0,055)	0,141 (0,054)
Heterozigozidade média esperada (H_e)	0,208 (0,070)	0,187 (0,065)	0,223 (0,072)

Hamrick e Godt (1990), em uma revisão de 653 estudos de diversidade genética por isoenzimas com 449 espécies de plantas, encontraram uma diversidade genética média em nível populacional de 0,160 para gimnospermas, 0,149 para espécies arbóreas, 0,159 para espécie de ampla distribuição, 0,109 para espécies tropicais, 0,124 para espécies de polinização por animais e 0,123 para espécie com dispersão pelo vento. Pode-se observar que a diversidade genética desta população nas plântulas foi superior às médias de todos estes casos e nos jovens e adultos manteve-se um pouco mais baixa quando comparada às médias de espécies arbóreas e de ampla distribuição.

No entanto, valores mais elevados ocorrem em algumas espécies. Em *Bauhinia forficata*, Santos (1994) encontrou o valor de 0,451 para heterozigiosidade em uma população natural. Já, Murawski e Bawa (1994) encontraram em *Stemonoporus oblongifolius*, uma heterozigiosidade média por população de 0,282. Hamrick e Loveless (1989) encontraram para 16 espécies arbóreas tropicais, que ocorrem com alta densidade, uma heterozigiosidade média de 0,211, sendo este valor superior ao encontrado em *C. brasiliense*, neste estudo.

Em espécies de baixas densidades ou raras, que apresentam altos índices de autofecundação, os valores de heterozigiosidade são menores que aqueles encontrados em espécies comuns. Hamrick e Murawski (1991), conduziram um estudo com 16 espécies arbóreas tropicais que ocorrem a baixa densidade (de 1 indivíduo a cada 2 ha a 1 indivíduo a cada 10 ha) e obtiveram uma heterozigiosidade média de 0,124.

Mesmo não estando tão fora dos valores de médias observadas para espécies comuns, *C. brasiliense* apresenta valores inferiores do que os esperados, estando mais próximos das médias encontradas para espécies raras, podendo ser um caso intermediário, ou seja, uma espécie de distribuição comum em ambiente com restrição.

Os valores de porcentagem de locos polimórficos encontrados nas 16 espécies comuns, citadas anteriormente, foram de (77%) e das 16 espécies raras de (42%). *C. brasiliense* apresentou novamente valores semelhantes às espécies raras (42,86%). Mesmo assim, esse polimorfismo não é considerado baixo quando comparado a índices de outras espécies. Comparando-se a magnitude desse índice ao encontrado para espécies vegetais, 36% (Hamrick et al. 1979) e 50% (Hamrick e Godt, 1990), pode-se considerar que a população de *C. brasiliense* apresenta um polimorfismo médio.

O número médio de alelos por loco foi baixo e variou pouco entre plântulas ($1,71 \pm 0,24$), jovens ($1,57 \pm 0,20$) e adultos ($1,64 \pm 0,20$). Para esta estimativa consideraram-se todos os locos, monomórficos e polimórficos e como grande parte dos locos eram monomórficos, o valor estimado apresentou-se baixo. Segundo Nei (1977), esta estatística é muito influenciada pelo tamanho da amostragem genética (número de locos), por isso não é uma boa medida de variabilidade genética para comparação entre amostras de tamanhos diferentes.

Na Tabela 4, observam-se estimativas de \hat{f} (índice de fixação) para os locos polimórficos de plântulas, jovens e adultos de *C. brasiliense*. Apenas os locos Mdh-1 e 6Pgdh-1 das plântulas e jovens e 6Pgdh-1 dos adultos, o \hat{f} foi negativo, indicando excesso de heterozigotos; nos demais locos, os valores de \hat{f} foram altos e positivos, mostrando excesso de homozigotos, ou seja, endogamia.

Com relação à média dos locos, o \hat{f} apresentou valores positivos, sugerindo endogamia. O grupo de indivíduos adultos mostrou-se mais endogâmico que o grupo de jovens e plântulas, respectivamente.

Os valores de \hat{f} mais positivos para adultos do que para plântulas (considerando que essas plântulas sejam as descendentes dos adultos) são diferentes dos normalmente encontrados, pois são contrastantes com outros trabalhos de espécies arbóreas tropicais. Como por

Tabela 4. Índice de Fixação (\hat{f}) para 3 grupos de *C. brasiliense*, locos polimórficos.

(Fixation index for three groups of *C. brasiliense*, polymorphic loci).

Loco	Plântulas	Jovens	Adultos
Mdh-1	-0,023 ns	-0,034 ns	0,105 ns
Prx-2	0,139 ns	0,051 ns	0,370 *
6pgdh-1	-0,258 *	-0,002 ns	-0,101 ns
Skdh-1	0,191 ns	0,394 *	0,634 **
Pgi-1	0,342 **	0,722 **	0,733 **
Lap-1	0,204 *	0,423 *	0,469 *
Média	0,084(0,159)ns	0,264(0,255)**	0,372(0,241)**

Significância: "Bootstrapping" sobre locos, 10.000 repetições; ns: não significativo; *: 5% ; **: 1%

exemplo, *Beichmedia pendula* (Murawski e Hamrick, 1991), *Shorea megistophylla* (Murawski et al., 1994), *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte et al., 1992), *Pithecellobion pedicellare* (O'Malley e Bawa, 1987), *Cecropia obtusifolia* (Alvarez-Buylla e Garay, 1994), dentre outros, todas com \hat{f} menores ou negativos nos adultos quando comparados às progênies. No entanto, valores de \hat{f} mais altos para adultos e menores para progênies são raros, mas já foram apontados em *Couratari guianenses* e *Couratari multiflora* (Lepsch-Cunha, 1996) e em *Trichilia tuberculata* (Murawski e Hamrick, 1991).

Esses resultados em *C. brasiliense* possivelmente podem ser explicados pelo efeito de estrangulamento e aumento populacional (Nei, 1975) concomitante com o modelo de migrantes (Slatkin, 1977), e podem ser consistentes com a seguinte hipótese: a presença de excesso de homozigotos (endogamia) pode ser resultante do processo de fundação, ocorrido ou por redução populacional ou colonização da área por poucos indivíduos (efeito fundador). Com o tempo, a eliminação dos homozigotos poderá ocorrer pelo aumento populacional e pelo fluxo gênico via pólen e sementes a longas distâncias, que restauram a diversidade genética.

A alta homozigose encontrada nos indivíduos adultos, parece ser possivelmente nova em

termos de colonização. Este fato pode ser explicado pela presença de espécies como *Talauma ovata*, *Tabebuia umbelata* e *Tapirira guianensis* que apresentam síndrome de colonizadoras de áreas novas; estas espécies estão entre as 10 primeiras com maior IVI (Schiavini, 1992). A espécie estudada pode estar colonizando o local recentemente, tendo sido fundada por uma pequena população de indivíduos. Assim sendo, o aumento da heteroziguidade nas plântulas, em relação aos adultos, pode ser explicado pelo aumento de indivíduos advindos de outras áreas, expandindo a floresta. A comparação das estimativas de adultos e plântulas quanto aos índices de fixação indicam que a espécie está adaptada à oscilação populacional, já que os mais jovens contêm mais heteroziguidade.

Um outro fator que pode explicar a maior homozigose nos indivíduos adultos é o fato da possível ocorrência de seleção de plântulas para o estabelecimento de indivíduos adultos. Esta hipótese pode ser explicada devido à ocorrência de indivíduos adultos de *C. brasiliense*, apenas onde o solo é hidromórfico (saturado de água) a maior parte do ano (Schiavini, 1992).

Sabe-se que as isoenzimas são marcadores neutros que não sofrem seleção, mas possivelmente os genes que estão sofrendo seleção

estão em locos muito próximos dos locos isoenzimáticos, ou seja, estão ligados. O loco que sofre seleção para uma melhor adaptação ao ambiente restrito de estabelecimento da espécie (saturado de água) está levando o loco isoenzimático junto, e assim, segregando de forma igual. Ao invés de estarem sendo selecionados genótipos heterozigotos, estão sendo selecionados os homozigotos, pois estes poderão ser os mais adaptados ao ambiente saturado de água. A curto prazo, homozigotos podem ter valor adaptativo maior que os heterozigotos, isso ocorre quando os homozigotos são adaptados a diferentes meios, mas os heterozigotos a nenhum deles (Futuyma, 1992).

Uma terceira forma de explicar a maior endogamia nos indivíduos adultos é que cruzamentos entre indivíduos homozigotos, geram indivíduos heterozigotos, refletido nas plântulas.

Em resumo, os adultos dessa espécie não apresentaram índices de fixação menores que as plântulas, refletindo a ausência da seleção no sentido da eliminação de homozigotos

(Lepsch-Cunha, 1996). No entanto, a maioria das outras espécies da floresta tropical, já apontada anteriormente, apresentam redução nos índices de fixação dos adultos com relação às progênies. Os autores em geral sugerem seleção a favor de heterozigotos (Equiarte et al., 1992) e, neste caso, endogamia aumentada deve ser importante no sentido da conservação dessas espécies, podendo ocasionar problemas de depressão endogâmica pelo aumento dos genótipos homozigotos (Lepsch-Cunha, 1996) e também o aparecimento de apomixia, sendo que, nesse caso, a agamospermia parece ser uma estratégia populacional para manutenção da variabilidade genética existente. Ela aumenta a proporção dos genótipos já existentes, ou seja, a apomixia facultativa pode conter o efeito da depressão endogâmica e deriva genética através do prolongamento e aumento do número de genótipos e, conseqüentemente, conservar a heterozigosidade advinda da reprodução sexuada (Murawski, 1995).

CONCLUSÃO

Detectaram-se diferenças significativas nas freqüências alélicas entre os diferentes grupos amostrados, entretanto os dados não permitem concluir, com precisão, se os desvios são devido ao sistema reprodutivo ou devido a fatores evolutivos.

A diversidade genética encontrada nos três grupos de indivíduos *C. brasiliense* está em torno da média das populações de espécies arbóreas já estudadas. A maior parte da variabilidade genética encontra-se entre as plântulas. Os valores obtidos de heterozigosidade obser-

vada para esta espécie, em geral, foram menores que aqueles já encontrados para espécies comuns.

A análise dos níveis de fixação alélica mostrou a presença de endogamia em todos os grupos, sendo menos pronunciada nas plântulas.

Os resultados gerais indicam que, na área de estudo, existe a capacidade de conservar a variabilidade genética dentro da população ao longo do tempo, já que a espécie apresenta intensa regeneração, com alta diversidade genética.

AUTORES E AGRADECIMENTOS

CRISTINA BORGES KAWAGUICI é Mestre em Ciências Florestais pelo Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP.

PAULO YOSHIO KAGEYAMA é Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP. Caixa Postal 9 – 13400-970 – Piracicaba, SP. E-mail: kageyama@esalq.usp.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, S.A.; PETER, I.P.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e fungos em essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E.; GARAY, A.A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. **Evolution**, v.48, n.2, p.437-453, 1994.
- BUCKLEY, D.P.; O'MALLEY, D.M.; APSIT, V.; PRANCE, G.T.; BAWA, K.S. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl. Lecythidaceae): 1- genetic variation in natural populations. **Theoretical and applied genetics**, v.76, p.923-928, 1988.
- EGUIARTE, L.E.; PEREZ-NASSER, N.; PINERO, D. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. **Heredity**, v.69, p.217-228, 1992.
- FISCHER, E.A. Distribuição de freqüência de classes de tamanho e estratégia reprodutiva de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Guttiferae) em mata ciliar na Estação Ecológica Estadual Juréia-Itatins, São Paulo. In: SIMPÓSIO DE ECOSISTEMAS DA COSTA SUL E SUDESTE BRASILEIRA, 2, São Paulo, 1990. **Anais**. São Paulo, 1990. v.2, p.337-347
- FUTUYMA, D.J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 621p.
- GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae)**. Campinas, 1996. 69p. Tese (Mestrado) - UNICAMP.
- HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural forest population. In: SHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; MACBIDE, B.; THOMAS, W.L., ed. **Genetic and conservation**. New York: Benjamin / Cummings, 1983. p.335-348.
- HAMRICK, J.L. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. In: HAMRICK, J.L. **Differentiation patterns in higher plants**. New York: Academic Press, 1987. p.53-67.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: Brown, A.H.D.; Clegg, M.T.; Kahler, A.L.; Weir, B.S., ed. **Plant population genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1990. p.43-63.
- HAMRICK, J.L.; LINHART, Y.B.; MITTON, G. Levels of genetic variation in trees: influence of life history characteristics. **USDA. Forest Service. PSW general technical report**, n.48, p.35-41, 1979.
- HAMRICK, J.L.; LINHART, Y.B.; MITTON, G. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual review on ecological systematics**, v.10, p.173-200, 1979.
- HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. The genetic structure of tropical tree populations: association with reproductive biology. In: BOCK, J.H.; LINHART, Y.B., ed. **The evolutionary ecology of plants**. Boulder: Westview Press, 1989. p.129-146.
- HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, v.18, p.201-207, 1986.
- HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon neotropical tree species. **Journal of tropical ecology**, v.7, p.395-399, 1991.
- 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, Campinas, 1989. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1989. p.130-143.
- KAWAGUICI, C.B. **Germinação de sementes, estrutura e sobrevivência de uma população de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) em mata de galeria da Estação Ecológica do Panga**. Uberlândia, 1994. 64p. (Monografia de graduação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia).
- KIMURA, M. The neutral theory as a basis for understanding the mechanism of evolution and variation at the molecular level. In: KIMURA, M., ed. **Molecular evolution, protein polymorphism and the neutral theory**. Tokyo: Japan Scientific Societies, 1982. p.3-56.
- LEPSCH-CUNHA, N. **Estrutura genética e fenologia de espécies raras de *Couratari* spp. (Lecythidaceae) na Amazônia Central**. Piracicaba, 1996. 147p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- LIENGSIRI, C.; YEH, F.C.; BOYLE, T.J.B. Isozyme analysis of a forest tree, *Pterocarpus macrocarpus* Kurz. in Thailand. **Forest ecology and management**, v.74, p.13-22, 1995.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 116p.

- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J.L. Distribucion de la variacion en espécies de arbolés tropicales. **Revista biologia tropicales**, v.35, suplemento 1, p.165-175, 1987.
- MARQUES, M.C.M. **Estudos auto-ecológicos do guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. Clusiaceae) em mata ciliar no município de Brotas, SP.** Campinas, 1994. 123p. Tese (Mestrado). UNICAMP / Instituto de Biologia
- MORAES, M.L.T. **Variabilidade genética por isoenzimas e caracteres quantitativos em duas populações naturais de *Myracrodouon urundeuva* F. F. & M. F. Allemão- Anarcadiaceae (syn: *Astronium urundeuva* FR Allemão Engler).** Piracicaba, 1993. 153p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- MURAWSKI, D.A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from a canopy perspective. In: LAWMAN, M.D.; NADKARMI, N.M. **Forest canopies.** New York: Academic Press, 1995. p.457-493.
- MURAWSKI, D.A.; BAWA, K.S. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. **American journal of botany**, v.81, n.2, p.155-160, 1994.
- MURAWSKI, D.A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K.S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forests. **Biotropica**, v.26, p.23-29, 1994.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. The effect of density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, v.67, p.167-174, 1991.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **The American naturalist**, v.106, n. 949, p.283-292, 1972.
- NEI, M. Molecular population genetics and evolution. In: NEUBERGER, A.; TATUM, E.L., ed. **Frontiers of biology.** New York: Elsevier, 1975. v.40, p.34-46
- NEI, M. Statistic and analisis of gene diversity in subdividid populations. **Annals of human genetics**, v.41, p.225-233, 1977.
- O'MALLEY, D.M.; BAWA, K.A. Matyng system of a tropical rain forest tree species. **American journal of botany**, v.74, n.8, p.114311-49, 1987.
- SANTOS, E.M.G. **Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpiniaceae).** Piracicaba, 1994. 114p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.
- SCHIAVINI, I. **Estrutura das comunidades de mata de galeria da Estação Ecológica do Panga (Uberlândia, MG).** Campinas, 1992. 139p. Tese (Doutorado). UNICAMP / Instituto de Ecologia
- SCHIAVINI, I.; ARAUJO, G.M. Considerações sobre a vegetação da Reserva Ecológica do Panga (Uberlândia, MG). **Sociedade e natureza**, v.1, p.61-66, 1989.
- SLATKIN, M. Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinctions. **Theoretical population biology**, v.12, p.253-262, 1977.
- STUBER, C.W.; WENDEL, J.F.; GOODMAN, M.M.; SMITH, J.S.C. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoreses of enzymes from maize (*Zea mays* L.). **Technical bulletin North Caroline State University**, n.286, p.1-87, 1988.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER. **Byosys-2: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics.** Urbana: University of Illinois, 1997.
- VENCOVSKY, R. Variance of an estimate of outcrossing rate. **Revista brasileira de genética**, v.17, n.3, p.349-351, 1994.

