

HERANÇA E LIGAÇÃO EM ISOENZIMAS DE *Tabebuia cassinoides**

Alexandre Magno SEBBENN**
Carlos Eduardo Sícoli SEOANE***

RESUMO

A herança e a ligação foram estudadas em oito sistemas isoenzimáticos revelados em 21 progênies de polinização aberta de *Tabebuia cassinoides* (Lam.) D.C. (caixeta) amostradas em populações do Estado de São Paulo. Doze zonas enzimáticas foram consistentemente identificadas, sendo todas polimórficas. A segregação dos locos foi homogênea entre as árvores e não foram detectados fortes indícios de desvio de segregação mendeliana. O loco *6pgdh-1* apresentou desvios significativos da razão de segregação esperada 1:1, mas o tamanho amostral utilizado indica a necessidade de reavaliação desse padrão, usando maior número de árvores heterozigotas. Evidências de ligação foram detectadas entre três pares de locos: *Pgi-2:Idh-1*, *Pgm-1:Per-1* e *Per-2:Est-1*.

Palavras-chave: herança; isoenzimas; *Tabebuia cassinoides*; espécies arbóreas tropicais.

1 INTRODUÇÃO

Tabebuia cassinoides (Lam.) D.C. (Bignoniaceae) ou caixeta é uma espécie arbórea pioneira, geralmente de pequeno porte (máximo 20 m de altura e 100 cm de diâmetro à altura do peito - DAP). O tronco é irregular, geralmente tortuoso e apresenta raízes aéreas na base (Carvalho, 1994). Segundo Carvalho (1994), a espécie distribui-se entre as latitudes 8°S (PE) e 26°S (SC), na faixa litorânea brasileira. *T. cassinoides* ocorre em terrenos permanentemente alagados ou encharcados, formando em alguns locais, agrupamentos densos, às vezes quase puros. A frequência é irregular e descontínua, uma vez que tem ocorrência localizada restrita aos locais brejosos próximos ao litoral. A espécie é exclusiva da Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica), nas formações Terras Baixas e Baixo-Montana e nas Formações Pioneiras de influência pluvial. Ocorre, também, na restinga. Nessas formações, ocupa os estratos superior e intermediário. A brotação é intensa após o corte, permitindo que a espécie possa ser manejada pelo sistema de talhadia.

ABSTRACT

Inheritance and linkage were studied in eight isoenzymes from 21 open-pollinated families of *Tabebuia cassinoides* (Lam.) D.C. (caixeta), sampled in populations from São Paulo State. Twelve enzyme zones were consistently identified. In all loci, the segregation ratio was homogeneous among heterozygous trees and evidences of departure from expected mendelian segregation were not detected. *6pgdh-1* locus showed significant deviation from the expected 1:1 segregation ratio, but it is necessary to enlarge the sample size to better the evaluation. Linkage evidences were detected in three pairs of loci: *Pgi-2:Idh-1*, *Pgm-1:Per-1* and *Per-2:Est-1*.

Key words: inheritance; isozymes; *Tabebuia cassinoides*; tropical tree species.

Sua madeira é muito utilizada como matéria-prima para artesanato, devido à leveza e maleabilidade (Carvalho, 1994). *T. cassinoides* é explorada pelo homem há mais de 50 anos, e hoje muitas de suas populações já desapareceram ou se apresentam abandonadas devido à baixa produtividade.

A estrutura genética de populações, o sistema de reprodução e os efeitos da seleção têm sido extensivamente estudados em populações naturais de espécies arbóreas usando análises de isoenzimas (Roberds & Brotschol, 1985). Dessas aplicações, o estudo da estrutura genética e do sistema de reprodução requerem que o modo de herança e a relação de ligação entre as isoenzimas sejam conhecidos (Furnier *et al.*, 1986; Gillet & Hattemer, 1989; Lewandowski *et al.*, 1992; Thorsén *et al.*, 1997), a fim de se obter estimativas confiáveis dos parâmetros estimados. O objetivo do presente trabalho é estudar a herança e a relação de ligação entre 12 locos isoenzimáticos revelados em populações de *T. cassinoides* do Estado de São Paulo.

(*) Aceito para a publicação em outubro de 2004.

(**) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: amsebbenn@bol.com.br

(***) Instituto Brasileiro de Recuperação Ambiental e Desenvolvimento Sustentável – IBRAS, Rua Ignez Peixoto, 565, cs7, 24346-070, Niterói, RJ, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

O trabalho foi realizado a partir da coleta de sementes de polinização aberta em 10 e 11 árvores em duas ocorrências naturais de *T. cassinoides* no município de Iguape-SP. Uma população está localizada na Estação Ecológica de Juréia-Itatins do Instituto Florestal de São Paulo, e outra na propriedade particular Fazenda Cindomel. Adicionalmente às sementes, foram amostrados tecidos foliares das árvores adultas onde eram coletadas as sementes. De cada árvore matriz foram avaliadas, por eletroforese de isoenzimas, dez plântulas.

2.2 Eletroforese de Isoenzimas

A eletroforese de isoenzimas foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de 2/3 de amido de milho (penetrose 30) a 13%, combinado com 1/3 de amido de batata. As corridas foram realizadas em geladeira com temperatura de 5°C, mantendo-se a corrente constante em 35 mA nos eletrodos. As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de árvores adultas e plântulas com um ano de idade, empregando-se aproximadamente 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP 40), 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-60) e 200 µl de solução de extração número três de Soltis & Soltis (1989) para tecidos com alta concentração de compostos secundários. O tampão do eletrodo e do gel utilizado foi o Histidina, pH 6,6 (Alfenas, 1998). As isoenzimas reveladas foram: Alfa-esterase (α -EST-E.C. 3.1.1.1), Fosfoglucomutase (PGM-E.C. 2.7.5.1), 6-Fosfogluconato desidrogenase (6PGDH-E.C. 1.1.1.44), Fosfoglucoose isomerase (PGI-E.C. 5.3.1.9), Isocitrato desidrogenase (IDH-E.C. 1.1.1.42), Malato desidrogenase (MDH-E.C. 1.1.1.37), Peroxidase (PER-E.C. 1.11.1.7) e Xiquimato desidrogenase (SKDH-E.C. 1.1.1.25). O protocolo de revelação das isoenzimas é o mesmo apresentado por Alfenas (1998).

2.3 Análise de Segregação

O estudo da herança isoenzimática de *T. cassinoides* foi realizado com base no método descrito por Gillet & Hattemer (1989), que compara o genótipo de árvore materna com a segregação de suas progênies de polinização aberta. As seguintes condições devem ser satisfeitas:

a) toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe; b) em casos de uma árvore-mãe heterozigota (A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i , A_j ; ii) o número de progênies heterozigotas A_iA_j (N_{ij}) deve ser igual à soma das progênies homozigotas A_iA_i (N_{ii}) e A_jA_j (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$, e iii) o número de progênies heterozigotas A_iA_k (N_{ik}) deve ser igual ao número de progênies heterozigotas A_jA_k (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$. Os fenótipos observados em cada progênie de árvores maternas heterozigotas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1, usando um teste G (Sokal & Rohlf, 1981) com um grau de liberdade. Posteriormente, todos os testes individuais foram somados e um teste de G total foi obtido ($\sum G_{Hipótese:1:1}$), com n graus de liberdade, sendo n o número de progênies usadas no teste. Simultaneamente, os fenótipos observados foram somados e um teste G agrupado para a segregação 1:1 foi obtido ($G_{1:1Agrupado}$), com um grau de liberdade. A hipótese de heterogeneidade de segregação entre progênies foi realizada utilizando-se um teste G de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste G agrupado ($G_{1:1Agrupado}$), do teste G total ($\sum G_{Hipótese:1:1}$). Esses testes são aditivos, assim $\sum G_{Hipótese:1:1} = \sum G_{Heterogeneidade} + G_{1:1Agrupado}$, com n , $n-1$ e 1 grau de liberdade, respectivamente (Sousa *et. al.*, 2002). Se os testes resultavam significativos, progênies de árvores heterozigotas que apresentaram desvios da segregação 1:1 eram excluídas do conjunto de dados e as análises eram repetidas. Os locos foram designados com letras e números, e os alelos com números em ordem decrescente de migração do ânodo para o cátodo.

2.4 Ligação

O teste de equilíbrio de ligação foi analisado usando-se a medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows, Δ_{ij} (Weir, 1979). Essa medida é apropriada para situações em que existam indícios de que a união de gametas não ocorreu de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta (Weir & Cockerham, 1979).

A hipótese nula de equilíbrio de ligação ($\Delta_{ij} = 0$) foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2) descrito em Weir (1979). Essas estimativas foram obtidas com auxílio do programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os oito sistemas isoenzimáticos avaliados em *T. cassinoides* revelaram 12 zonas de atividade enzimática passíveis de interpretação genética. Os esquemas demonstrando a forma de interpretação das isoenzimas e os respectivos locos são apresentados na FIGURA 1. Todos os 12 locos eram polimórficos, segregando de dois a quatro alelos por loco. A seguir são descritos os padrões de herança, segregação e desequilíbrio de ligação nas isoenzimas estudadas.

3.1 Padrões Isoenzimáticos

a) Fosfogluose Isomerase (PGI)

O sistema PGI apresentou duas zonas de atividades (*Pgi-1* e *Pgi-2*) com variação (FIGURA 1). A zona de migração mais rápida (*Pgi-1*) não apresentou padrão de resolução que permitisse a interpretação genética e por isso foi descartada da análise. A segunda zona, denominada loco *Pgi-2*, apresentou variação e foi interpretada como um loco polimórfico segregando três alelos. A observação de fenótipos de indivíduos heterozigotos nos géis indicou que esse loco é controlado por uma enzima dimérica (heterozigotos com três bandas). Duas zonas de atividade na enzima PGI têm sido detectadas em diversos estudos com espécies arbóreas, como em *Picea glauca* (Moench) Voss (King & Dancik, 1983), *Taxus baccata* L. (Lewandowski *et al.*, 1992), *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. (Sousa *et al.*, 2002), *Genipa americana* L. (Sebbenn, 2004) e *Caesalpinia echinata* Lam. (Giudice-Neto *et al.*, 2004).

b) Fosfoglucomutase (PGM)

O sistema PGM apresentou duas zonas de atividade enzimática (*Pgm-1* e *Pgm-2*), ambas polimórficas e segregando três alelos em cada loco (FIGURA 1). Observando os zimogramas de árvores heterozigotas verifica-se a presença de três bandas, indicando tratar-se de locos diméricos. Duas zonas de atividade também foram observadas em *Pinus taeda* L. (Adams & Joly, 1980),

Pseudotsuga menziesii var. *menziesii* (Mirb.) Franco (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Acer pseudoplatanus* L. (Konnert *et al.*, 2001), entre outras espécies.

c) Alfa-Esterase (α -EST)

Este sistema apresentou duas zonas de atividade, *Est-1* e *Est-2*, ambas polimórficas (FIGURA 2), segregando quatro e três alelos, respectivamente. Observando os fenótipos de árvores heterozigotas verifica-se tratar de locos controlados por enzimas monoméricas. Duas zonas de atividade nessa enzima também foram reportadas para espécies como *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch. (Ying & Morgenstern, 1990) e *Cecropia pachystachya* Trec. (Ribas & Sebbenn, 2004).

d) Isocitrato Desidrogenase (IDH)

O sistema IDH apresentou apenas uma zona de atividade (FIGURA 1). Essa zona (*Idh-1*) foi interpretada como um loco de expressão dimérica, visto que os indivíduos heterozigotos apresentavam três bandas. Nesse sistema, uma zona de atividade também tem sido reportada em outras espécies arbóreas como *P. taeda* (Adams & Joly, 1980) e *P. menziesii* var. *menziesii* (El-Kassaby *et al.*, 1982).

e) Malato Desidrogenase (MDH)

O sistema MDH apresentou três zonas de atividade enzimática. A zona de migração mais rápida não apresentou padrão de resolução que permitisse a interpretação genética. As outras duas zonas foram interpretadas como locos polimórficos (*Mdh-1* e *Mdh-2*), controlados por enzimas diméricas, segregando três alelos cada (FIGURA 1). Em espécies arbóreas, o sistema MDH tem apresentado de duas a três zonas de atividade (Adams & Joly, 1980; King & Dancik, 1983; Ying & Morgenstern, 1990; Thorsén *et al.*, 1997; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002; Zhelev *et al.*, 2002).

f) Peroxidase (PER)

O sistema PER apresentou duas zonas (*Per-1* e *Per-2*) de atividade enzimática passíveis de interpretação (FIGURA 1). Os fenótipos de indivíduos heterozigóticos apresentaram duas bandas, padrão típico de enzimas monoméricas. Foi observada a segregação de dois alelos em cada loco. Duas zonas de atividade também foram observadas nessa enzima em *Pinus thunbergii* Parl. (Shiraishi, 1988), *Fagus sylvatica* L. (Müller-Starck & Starke, 1993) e *Populus tremuloides* Michx. (Liu & Fournier, 1993).

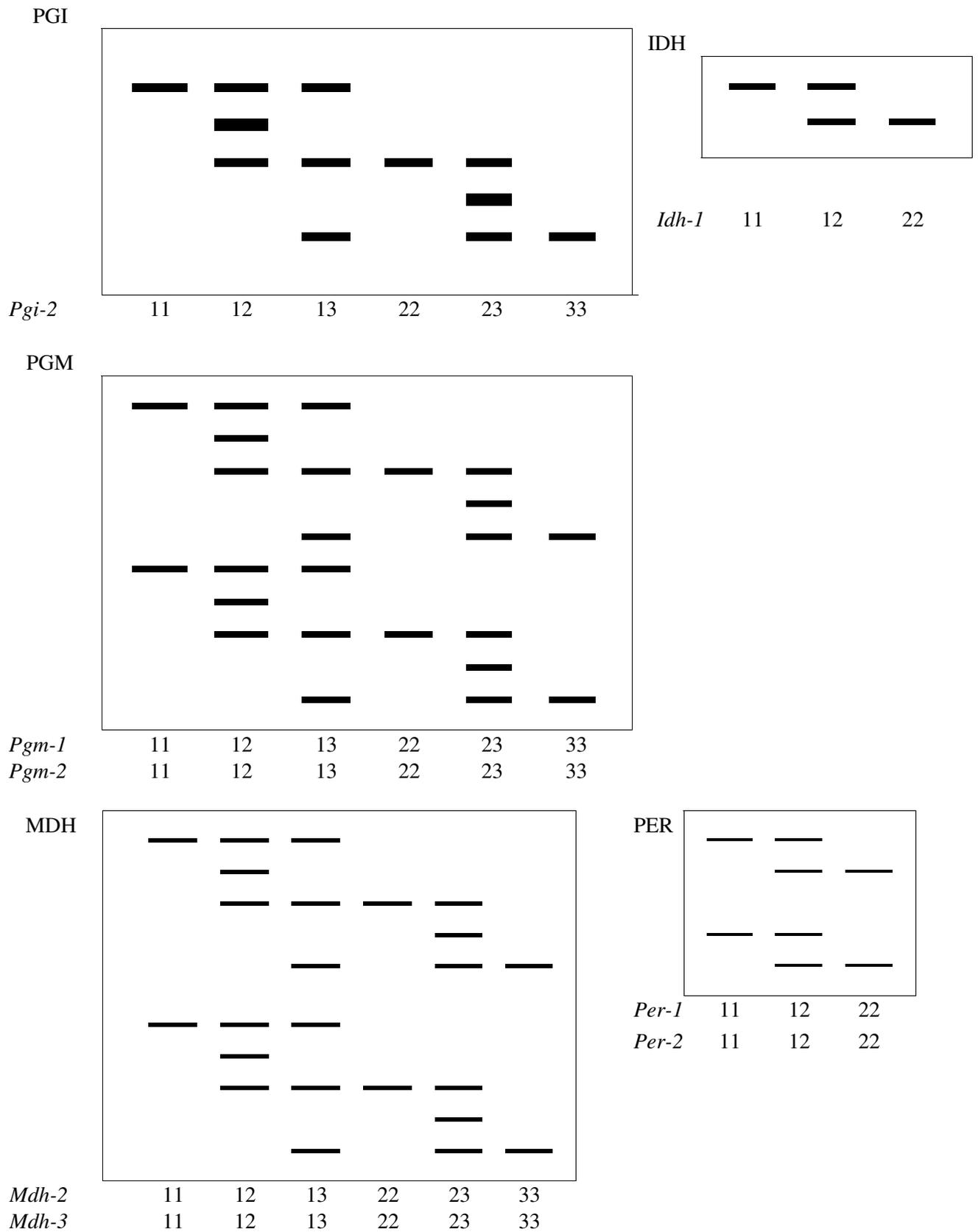


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. cassinoides* nos sistemas PGI, PGM, MDH, IDH e PER, juntamente com seus respectivos genótipos.

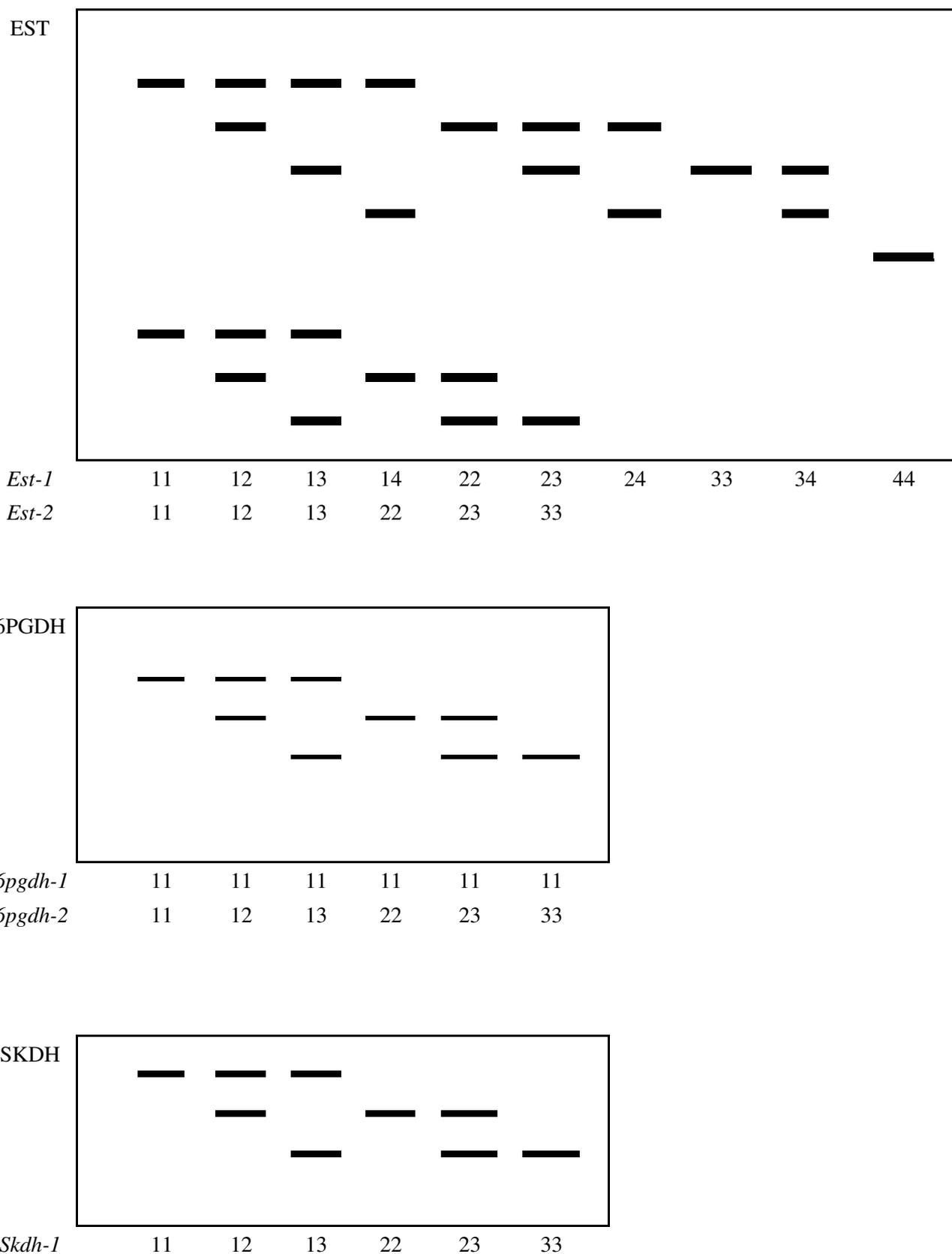


FIGURA 2 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. cassinoides* nos sistemas EST, 6PGDH e SKDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

g) *Xiquimato Desidrogenase* (SKDH)

O sistema SKDH apresentou uma zona de atividade (*Skdh-1*) nas condições de eletroforese utilizadas (FIGURA 2). Essa zona foi interpretada como um loco polimórfico controlado por uma enzima monomérica (heterozigoto apresentando duas bandas nos géis e segregando três alelos). Em *Populus tremuloides* Michx., Liu & Furnier (1993) também detectaram somente uma zona de atividade nesse sistema.

h) *Fosfogluconato Desidrogenase* (6PGDH)

O sistema 6-PGDH apresentou duas zonas de atividade nos géis (FIGURA 2). O loco de migração mais rápida (*6-Pgdh-1*) não apresentou variação e foi interpretado como um loco monomórfico com um alelo fixado. O loco de migração mais lenta nos géis (*6-Pgdh-2*) era variável e segregou até três alelos. Os fenótipos de indivíduos heterozigotos apresentavam três bandas indicando tratar-se de enzima dímera. Diversos outros estudos com espécies arbóreas têm observado duas zonas de atividade nessa enzima (Ying & Morgenstern, 1990; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002; Zhelev *et al.*, 2002).

3.2 Padrões de Segregação

O teste de segregação mendeliana em locos isoenzimáticos de *T. cassinoides* foi realizado agrupando progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno, devido ao pequeno tamanho amostral (dez plântulas tomadas de cada progênie) (TABELA 1). Os sistemas PGM e IDH não puderam ter seus padrões de herança avaliados devido à ausência de progênies de árvores heterozigotas na amostra. Nos demais sistemas isoenzimáticos foram detectados locos contendo progênies de árvores heterozigotas e os padrões de segregação detectados puderam ser avaliados. Os locos *Est-1*, *Est-2*, *Mdh-2* e *Skdh-1* não apresentaram qualquer indicio de desvios de segregação, tanto no teste G total ($\sum G_{Hipótese1:1}$), de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$), como no teste da hipótese de segregação agrupada 1:1 ($G_{1:1Agrupado}$), assim, pode-se considerar que esses locos estão sob controle genético de locos codominantes. Os locos *Pgi-2*, *Mdh-3*, *Per-1*, *Per-2* e *6pgdh-1* apresentaram desvios de segregação esperada 1:1 (locos codominantes), em pelo menos um dos três testes realizados.

Contudo, quando foram excluídas as progênies de árvores heterozigotas que apresentavam desvios da segregação individual esperada 1:1, os locos *Pgi-2*, *Mdh-3* e *Per-1* ajustaram-se às proporções esperadas em todos os testes. O loco *Per-2* apresentou indícios de desvios de segregação no teste agrupado ($G_{1:1Agrupado}$), mesmo após a exclusão das progênies mostrando desvios de segregação no teste individual. O desvio foi causado pelo excesso de homozigotos (25 heterozigotos: 44 homozigotos), sugerindo a possibilidade da existência de um alelo nulo nesse loco ou variações amostrais aleatórios.

O loco *6pgdh-1* apresentou desvios de segregação significativos a 99% de probabilidade no teste total ($\sum G_{Hipótese1:1}$) e de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$). Porém, não foi possível excluir progênies desse loco, porque todas as três apresentaram desvios da segregação esperada 1:1. Como neste caso só foram avaliadas três progênies, resultando em um baixo tamanho amostral (30 progênies), para confirmar o desvio observado seria interessante a reavaliação dos padrões de segregação desse loco usando um número maior de progênies. Isto permitiria concluir, com mais precisão, sobre os reais padrões de segregação nesse loco e sua herança genética. Distorções de segregação em locos da enzima 6PGDH também têm sido detectados em outros estudos realizados com espécies arbóreas (Adams & Joly, 1980; Strauss & Conkle, 1986; Chaisurisri & El-Kassaby, 1993; Sousa *et al.*, 2002). Segundo Adams & Joly (1980), Furnier *et al.* (1986) e Strauss & Conkle (1986) as distorções de segregação podem ser atribuídas à seleção ocorrendo entre meiose e fertilização, ou forte ligação entre alelos isoenzimáticos e alelos deletérios. Outra causa pode ser a presença de alelos nulos, quando as distorções são causadas por excesso de homozigotos, como neste caso. Como os alelos nulos não são detectados, indivíduos homozigóticos para o alelo nulo não são revelados e os heterozigóticos aparecem nos géis apenas com uma simples banda, sendo interpretados como fenótipos homozigotos para o alelo alternativo do alelo nulo.

Em suma, não existem evidências suficientes para rejeitar a hipótese de que os locos avaliados em *T. cassinoides* não estejam sob controle genético, e aparentemente todos estão segregando nas proporções mendelianas 1:1.

TABELA 1 – Teste para hipótese de segregação regular (G) de marcadores isoenzimáticos em *Tabebuia cassinoidea*.

Loco	Genótipo materno	Caso	Número de árvores (n)	$\sum N_{ij} : \sum (N_{ii} + N_{jj})$	$\sum G_{Hipótese I}$	$\sum G_{Heterogeneidade}$ GL = n-1	$G_{ElAgrupado}$ GL = 1	Árvores com desvio de segregação
<i>Pgi-2</i>	A_1A_2	a	14	53:79	31,42**	26,27**	5,15*	3
		b	11	44:59	7,73	5,54	2,19	
<i>Est-1</i>	A_1A_2	a	6	24:25	11,75	11,73	0,02	2
		b	4	16:16	2,89	2,80	0,03	
<i>Est-2</i>	A_1A_2	a	11	41:62	13,47	9,16	4,31	3
		b	8	39:54	9,61	7,18	2,43	
<i>Mdh-2</i>	A_1A_2	a	8	40:39	11,18	11,17	0,01	2
		b	6	24:35	3,47	1,41	0,06	
<i>Mdh-3</i>	A_1A_2	a	6	19:41	11,40	3,15	8,26**	2
		b	4	15:25	3,69	2,17	2,53	
<i>Per-1</i>	A_1A_2	a	5	24:27	16,81**	16,63**	0,18	2
		b	3	15:16	4,41	4,14	0,27	
<i>Per-2</i>	A_1A_2	a	8	27:52	12,94	4,89	8,05**	2
		b	7	25:44	9,09	3,74	5,30*	
<i>Skdh-1</i>	A_1A_2	a	8	29:45	5,39	1,90	3,49	2
		b	6	27:31	1,53	1,26	0,28	
<i>6pgdh-1</i>	A_1A_2	a	3	3:27	22,08**	22,08**	0,0	3

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

a) Inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b) Exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,05$.

(**) $P < 0,01$.

3.3 Ligação

Dos 66 pares de combinações possíveis entre os 12 locos isoenzimáticos detectados em *T. cassinoides*, foram observados desvios significativos da hipótese de segregação independente em três pares *Pgi-2:Idh-1*, *Pgm-1:Per-1* e *Per-2:Est-1* (TABELA 2). Embora, aparentemente esses locos estejam fisicamente ligados ou em desequilíbrio gamético, a baixa magnitude da medida de desequilíbrio de ligação de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$) e do valor de qui-quadrado indicam que as ligações não são fortes. A maior medida de desequilíbrio de ligação ($\hat{\Delta}_{ij}$) foi observada entre a combinação dos locos *Per-2:Est-1*, embora este valor seja baixo, 0,047, considerando a amplitude de valores que o estimador pode assumir (-0,25 a 0,25). Ainda, o teste de qui-quadrado detectou desequilíbrio de ligação a 99% de probabilidade apenas para os locos *Pgm-1:Per-1*, nos demais pares de locos a probabilidade de ligação foi fraca.

A exclusão de um dos locos de cada par de ligações quebra a associação entre estes, assim podem ser usados em estudos onde a hipótese de ausência de ligação é requerida como sistema de reprodução, estrutura genética e análise de paternidade. Locos em desequilíbrio de ligação viciam as estimativas multiloco de parâmetros genéticos. Porém, os baixos níveis aparentes de ligação observados sugerem que as ligações possam ter poucos efeitos nas estimativas multiloco de parâmetros genéticos. Os maiores efeitos podem ser esperados entre os locos *Pgm-1:Per-1*. O desequilíbrio de ligação detectado entre os locos *Pgi-2:Idh-1*, *Pgm-1:Per-1* e *Per-2:Est-1* não é reportado em nenhum outro estudo com espécies arbóreas.

Finalmente, nos demais pares de combinações entre locos não foram detectados indícios de desequilíbrio de ligação, pode-se afirmar que os alelos de diferentes locos não estão ligados ou em desequilíbrio gamético e segregam independentemente entre si.

TABELA 2 – Valores da medida composta de Burrows para o desequilíbrio gamético ($\hat{\Delta}_{ij}$), resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) e probabilidade associada (*P*) para pares de locos isoenzimáticos que apresentaram desvios significativos da hipótese de desequilíbrio de ligação em populações de *Tabebuia cassinoides*.

Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	<i>P</i>
<i>Pgi-2:Idh-1</i>	0,022	5,74*	0,017
<i>Pgm-1:Per-1</i>	-0,008	6,95**	0,008
<i>Per-2:Est-1</i>	0,047	4,29*	0,038

(*) *P* < 0,05.

4 CONCLUSÕES

Não foram detectados fortes indícios de desvios de segregação mendeliana nos locos isoenzimáticos revelados em *T. cassinoides*.

Foram detectados indícios significativos de ligação entre os pares de locos *Pgi-2:Idh-1*, *Pgm-1:Per-1* e *Per-2:Est-1* em *T. cassinoides*.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo financiamento do projeto, e aos três revisores anônimos pelas valiosas sugestões e correções realizadas no prévio manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W. T.; JOLY, R. J. Genetics of allozymes variants in Loblolly Pine. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 71, p. 33-40, 1980.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicação em plantas e microorganismos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa - UFV, 1998. 574 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.

- CHAISURISRI, K.; EL-KASSABY, Y. A. Genetic control of isoenzymes in Sitka pruce. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, n. 3, p. 206-211, 1993.
- EL-KASSABY, Y. A.; YEH, F. C.; SZIKLAI, O. Inheritance of allozyme variants in Coastal Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 24, p. 325-335, 1982.
- FURNIER, G. R. *et al.* Inheritance and linkage of allozymes in seed tissues of whitbark pine. **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 28, p. 601-604, 1986.
- GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.
- GIUDICE-NETO, J. del; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e ligação em locos isoenzimáticos de *Caesalpinia echinata*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 101-110, 2004.
- KING, J. N.; DANCİK, B. P. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 25, p. 430-336, 1983.
- KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 25-37, 2001.
- LEWANDOWSKI, A.; BURCZYK, J.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance and linkage of some allozymes in *Taxus baccata* L. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 41, p. 342-347, 1992.
- LIU, Z.; FURNIER, G. R. Inheritance and linkage of allozymes and restriction fragment length polymorphisms in Trembling Aspen. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, p. 419-424, 1993.
- MÜLLER-STARCK, G.; STARKE, R. Inheritance of isoenzymes in European Beech (*Fagus sylvatica* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, p. 291-296, 1993.
- RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio gamético em sete locos isoenzimáticos de *Cecropia pachystachya*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 111-119, 2004.
- ROBERDS, J. H.; BROTSCHOL, J. V. Linkage disequilibrium among allozyme loci in natural populations of *Liriodendron tulipifera* L. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 34, p. 137-141, 1985.
- SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio gamético em algumas isoenzimas polimórficas em *Genipa americana* L. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 65-72, 2004.
- SHIRAISHI, S. Inheritance of isozymes variation in Japanese Black Pine, *Pinus thunbergii* Parl. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 93-100, 1988.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**: the principles and practice of statistics in biological research. New York: Copyright Ltd., 1981. 859 p.
- SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. **Isozymes in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, 1989. p. 46-67.
- SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 191-196, 2002.
- STRAUSS, S. H.; CONKLE, M. T. Segregation, linkage and diversity of allozymes in knobcone pine. **Theor. Appl. Genet.**, Berlin, v. 72, p. 483-493, 1986.
- THORSÉN, J. *et al.* Inheritance and linkage of isozymes loci in the Basket Willow (*Salix viminalis* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 144-150, 1997.
- WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Lawrence, v. 35, p. 235-354, 1979.
- _____.; COCKERHAM, C. C. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity**, Lund, v. 43, p. 105-111, 1979.
- YEH, F.C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis. Edmonton: University of Alberta, 1999. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>> Acesso em: 30 mar. 2004.
- YING, L.; MORGENSTERN, E. K. Inheritance and linkage relationships of some isozymes of *Larix laricina* in New Brunswick, Canada. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 39, p. 245-251, 1990.
- ZHELEV, P.; GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Inheritance and linkage of allozymes in a Balkan endemic, *Pinus peuce* Griseb. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 93, p. 60-62, 2002.