

## PRODUÇÃO DE COMPENSADO ESTRUTURAL DE *Pinus taeda* L. COM UTILIZAÇÃO DE PAPEL IMPREGNADO COM RESINA FENÓLICA

Setsuo Iwakiri<sup>1</sup>  
Alan Sulato de Andrade<sup>2</sup>  
Antonio Américo Cardoso Júnior<sup>2</sup>  
Daniel do Canto Oliveira Saks<sup>2</sup>  
José Guilherme Prata<sup>2</sup>  
Luciana Becker Pastor Krambeck<sup>2</sup>  
Merielen de Carvalho Lopes<sup>2</sup>  
Sílvia Maria Maciel Walter<sup>2</sup>

### RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade de compensados estruturais com colagem à base de papel impregnado com resina fenólica - filme fenólico. Foram produzidos compensados compostos de cinco lâminas de *Pinus taeda* com 2 mm de espessura. Os painéis foram prensados com temperatura de 140°C e 160°C; pressão específica de 1,5 e 2,0 Mpa, tempo de prensagem real e acrescidos de 1 e 2 minutos. Os resultados da resistência da linha de cola nos testes seco e de fervura demonstraram que o emprego de temperatura de 160°C e pressão específica de 2,0 MPa seriam as condições mais adequadas para a prensagem de painéis compensados com filme fenólico. Com o emprego de condições adequadas de prensagem, os compensados produzidos com filme fenólico podem apresentar qualidade de colagem superior em relação aos compensados produzidos com resina fenólica na forma líquida.

**Palavras-chaves:** *Pinus*, compensado estrutural, filme fenólico

### ABSTRACT

#### MANUFACTURE OF STRUCTURAL PLYWOOD OF *Pinus taeda* L. WITH PHENOLIC SURFACE FILM

This paper was developed to evaluate the quality of structural plywood using the phenolic surface film. The plywoods were manufactured using five veneer of *Pinus taeda* with 2 mm thickness. The boards were pressed with temperature of 140°C and 160°C; specific pressure of 1,5 and 2,0 MPa; press time to achieve the temperature of resin curing, plus 1 and 2 minutes. The results of the glue line tests – dry and humidity, showed that the use of press temperature of 160°C and specific pressure of 2,0 MPa, are the better conditions to plywood manufactures using phenolic surface film. Using the better conditions of press parameters to board pressing, the plywood manufactured with phenolic surface film could present higher bonding quality in comparison to plywood manufactured with the liquid phenolic resin.

**Key words:** *Pinus*, structural plywood, phenolic surface film

### INTRODUÇÃO

A madeira de *Pinus* começou a ser utilizada em escala comercial para produção de lâminas e painéis compensados a partir do início da década de 90. Nos últimos 10 anos, verificou-se um grande crescimento na produção de compensados de pinus, passando de 30%

para 60% do total da produção brasileira. Este incremento na produção pode ser atribuído principalmente ao aumento nas exportações de compensado estrutural com colagem fenólica, apresentando um salto de 100.000 m<sup>3</sup> para mais de 1.000.000 m<sup>3</sup> anuais nos últimos 10 anos (ABIMCI, 2003).

As indústrias de compensados utilizam basicamente dois tipos de resinas, sendo a uréia-formaldeído (UF) para

<sup>1</sup> DETF, Universidade Federal do Paraná

<sup>2</sup> Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná

Recebido para publicação em 2004

uso interior e a fenol-formaldeído (FF) para uso exterior. Segundo Pizzi (1983), a resina fenol-formaldeído começou a ser utilizada a partir da década de 30 na fabricação de compensados especiais para aviação e construção naval, por apresentarem alta resistência à umidade e nas condições eventuais de contato direto com a água.

Na composição da cola para produção de compensados são adicionadas à resina FF, uma determinada quantidade de extensor (farinha de trigo) e água. A adição do extensor na mistura da cola FF visa principalmente a redução do custo, controle da absorção e penetração da cola em lâminas porosas e facilitar o espalhamento da cola sobre a superfície da lâmina (Nock & Richter, 1978).

A resina FF é amplamente comercializada na forma líquida, sendo referenciada como “resol”, e, em menor escala, na forma de pó, conhecida como “novolac” (Pizzi, 1983). Entretanto, existe um outro meio de utilização da resina FF, que é na forma de película, comercialmente denominada de filme fenólico ou “tego-filme”, o qual, trata-se de um papel poroso impregnado com a resina FF (Marra, 1992). Este material é muito empregado nas faces de compensados plastificados para uso em construção civil.

O filme fenólico é fabricado normalmente com a gramatura variando entre 120 g/m<sup>2</sup> a 220 g/m<sup>2</sup>, e o material é impregnado sobre as faces do compensado “plastificado”, através da aplicação de calor e pressão. De acordo com Kollmann et al. (1975), a resina FF na forma de película pode ser utilizada como elemento de ligação adesiva, e tem a vantagem de eliminar a operação de mistura e espalhamento, sendo particularmente adequada para colagem de lâminas finas e frágeis. Para que ocorra a impregnação da película sobre a superfície das lâminas, as condições de prensagem recomendadas são: pressão específica de 1,5 Mpa, temperatura de prensagem a partir de 140°C e tempo de prensagem na faixa de 2 a 3 minutos.

Tendo em vista poucas informações técnicas disponíveis na literatura com relação à colagem de lâminas com filme fenólico, este trabalho foi desenvolvido com

objetivo de avaliar os efeitos dos parâmetros de prensagem no que tange à temperatura, pressão específica e tempo de prensagem, sobre a resistência da linha de cola dos painéis compensados produzidos com lâminas de *Pinus taeda*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas nesta pesquisa, lâminas de *Pinus taeda* L. com 2,0 mm de espessura, obtidas de toras provenientes de plantios com 10 anos de idade, localizados no Município de Ventania, Estado do Paraná. Para a colagem de lâminas foi utilizado papel impregnado com resina fenol-formaldeído – “filme fenólico”, com gramatura de 200 g/m<sup>2</sup>.

Os painéis compensados foram produzidos com cinco lâminas e dimensões de 50 x 50 cm, conforme o plano experimental apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Plano experimental para produção de painéis compensados.

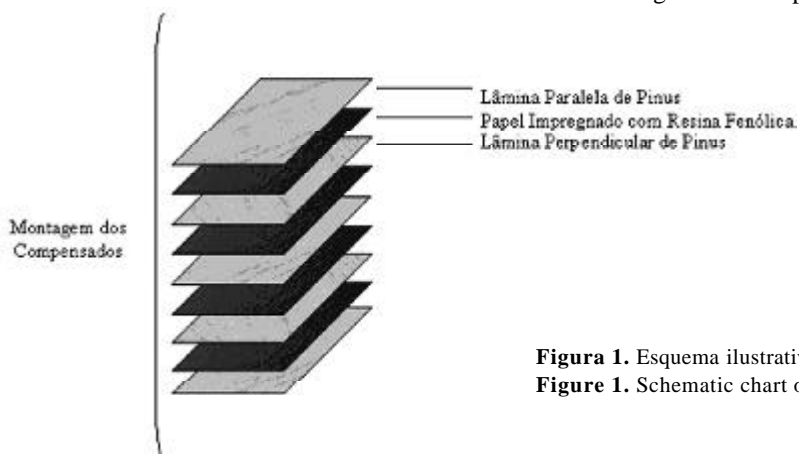
**Table 1.** Experimental plan for plywood manufactures.

Temperatura (°C)	Pressão (Mpa)	Tempo de prensagem (min.)		
		Real (T1)	+1min. (T2)	+2min. (T3)
140	1,5	Real (T1)	+1min. (T2)	+2min. (T3)
160	1,5	Real (T4)	+1min. (T5)	+2min. (T6)
140	2,0	-	+1min. (T7)	-

Real: tempo até a linha de cola mais interna atingir a temperatura de cura da resina.

Na prensagem dos painéis, além de diferentes temperaturas e pressões específicas, o tempo de permanência na prensa foi monitorado através de cabos termopares acoplados ao medidor de temperatura digital, com a finalidade de atingir a temperatura e o tempo conforme definidos no plano experimental.

As composições das lâminas e filme fenólico para a montagem dos compensados estão ilustradas na Figura 1.



**Figura 1.** Esquema ilustrativo da montagem de painéis compensados.  
**Figure 1.** Schematic chart of plywood composition.

V. 11, n.1, p. 25 - 28, ago./dez. 2004

Foram produzidos dois painéis por tratamento, totalizando 14 painéis no total. Após o acondicionamento dos painéis na câmara climática à temperatura de  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $(65 \pm 3)\%$ , foram retirados os corpos-de-prova para ensaios de resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento, no teste seco e de fervura. Os ensaios foram realizados com base nos procedimentos descritos na norma EN 314-1 (1993).

Os resultados foram avaliados através da análise de variância e teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 95%. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento (RLC) – teste seco

Os valores médios da resistência da linha de cola

às tensões de cisalhamento (RLC) - teste seco, para as diferentes condições experimentais estão apresentados na Tabela 2.

Para os painéis prensados com temperatura de  $140^\circ\text{C}$  e pressão específica de 1,5 MPa (T1, T2 e T3), observa-se uma redução na RLC com o aumento no tempo de prensagem. Os painéis prensados com tempo real acrescido de 2 minutos (T3), apresentaram valor médio estatisticamente inferior em relação aos painéis prensados com tempo menor (T1 e T2).

Com o aumento da temperatura de prensagem de  $140^\circ\text{C}$  para  $160^\circ\text{C}$  e mesma pressão específica (T4, T5 e T6), verificou-se um aumento nos valores médios da RLC. Os painéis prensados com tempo real de prensagem acrescido de 2 minutos (T6), apresentaram valor médio estatisticamente igual aos painéis prensados com tempo real acrescido de 1 minuto (T5), porém superior aos painéis prensados com tempo real (T4).

**Tabela 2.** Valores médios da resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento (RLC) e parâmetros estatísticos - teste seco.

**Table 2.** Average values of glue line shear strength and statistical parameters – dry test.

TRATAMENTOS	Média (MPa)	Tukey (95%)	Desvio Padrão (MPa)	Coefficiente de Variação (%)
T1	3,40	BCD	0,49	14,33
T2	2,78	B	0,61	22,00
T3	2,03	A	0,28	13,61
T4	2,75	BC	0,26	9,36
T5	3,49	CD	0,51	14,65
T6	3,71	D	0,36	9,64
T7	3,84	D	0,59	15,36

Essa inversão no comportamento dos valores médios da RLC pode estar relacionada ao menor tempo de exposição do filme fenólico ao calor, tendo em vista a maior rapidez na transferência de calor dos pratos da prensa à linha de cola mais interna, decorrente da maior temperatura de prensagem. Com a menor temperatura de prensagem ( $140^\circ\text{C}$ ), utilizada para os tratamentos T1, T2 e T3, o maior tempo de exposição do filme fenólico ao calor pode ter ocasionado uma degradação físico-química do adesivo, com a conseqüente redução na RLC.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar também que, à mesma temperatura de prensagem ( $140^\circ\text{C}$ ), o aumento na pressão específica de 1,5 MPa (T2) para 2,0 MPa (T7), resultou no incremento estatisticamente significativo da RLC. Este aumento na RLC pode ser

atribuído ao melhor contato superficial e impregnação mais eficiente do filme fenólico na ligação adesiva entre as duas lâminas adjacentes, conforme relatado por Marra (1992). Outro fator mencionado por Pizzi (1983), que pode também contribuir na ligação adesiva entre as lâminas é a diferença na mobilidade do adesivo líquido e na forma de película. A absorção do adesivo líquido pela madeira é mais facilitada, entretanto, a redução na viscosidade do adesivo na fase inicial do aquecimento, poderá reduzir a espessura da linha de cola e prejudicar a ligação adesiva.

Com exceção do tratamento T3 com 2,03 MPa, os valores médios da RLC obtidos neste estudo, foram superiores ao 2,74 MPa, apresentado no Catálogo Técnico da ABIMCI (2002), para compensados estruturais de Pinus com 12 mm de espessura e compostos de cinco lâminas.

**Resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento – teste de fervura**

Os valores médios da resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento (RLC) – teste de fervura, para as diferentes condições experimentais estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores médios da resistência da linha de cola às tensões de cisalhamento (RLC) e parâmetros estatísticos - teste de fervura.

**Table 3.** Average values of glue line shear strength and statistical parameters – boil test.

TRATAMENTOS	Média (MPa)	Tukey (95%)	Desvio Padrão (MPa)	Coefficiente de Variação (%)
T1	1,75	BC	0,53	30,51
T2	1,35	AB	0,54	40,00
T3	1,09	A	0,14	12,44
T4	1,78	ABC	0,53	29,57
T5	2,25	CD	0,38	16,91
T6	2,62	D	0,51	19,50
T7	1,84	BC	0,49	26,87

Para os painéis prensados com temperatura de 140°C e pressão específica de 15 MPa (T1, T2 e T3), pode-se constatar uma redução na RLC com o aumento no tempo de prensagem. Os painéis prensados com tempo real acrescido de 1 e 2 minutos (T2 e T3), apresentaram valores médios estatisticamente inferiores em relação aos painéis prensados com tempo menor (T1).

Assim como no teste seco, o aumento na temperatura de prensagem de 140°C para 160°C com mesma pressão específica (T4, T5 e T6), resultou em aumento significativo dos valores médios da RLC no teste de fervura, para painéis prensados com tempo real acrescidos de 1 e 2 minutos.

Essa inversão no comportamento dos valores médios da RLC pode ser atribuída à maior rapidez na transferência de calor decorrente da maior temperatura de prensagem, aliado ao menor tempo de exposição da linha de cola às altas temperaturas, evitando a possível ocorrência da degradação físico-química do adesivo.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar também que à mesma temperatura de prensagem (140°C), o aumento na pressão específica de 1,5 MPa (T2) para 2,0 MPa (T7), resultou no incremento da RLC, embora a diferença não seja estatisticamente significativa. O melhor contato superficial e impregnação mais eficiente do filme fenólico na ligação adesiva entre as duas lâminas adjacentes, pode ter contribuído para o aumento da RLC, conforme relatado por Marra (1992).

Com exceção dos tratamentos T2 e T3 com 1,35 Mpa e 1,09 Mpa, respectivamente, os valores médios da

RLC obtidos neste estudo, foram superiores ao 1,47 MPa, apresentado no Catálogo Técnico da ABIMCI (2002) para compensados estruturais de pinus com 12 mm de espessura e compostos de cinco lâminas.

**CONCLUSÕES**

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, as seguintes conclusões podem ser apresentadas:

- Na combinação dos parâmetros temperatura, pressão específica e tempo de prensagem, a utilização de maior temperatura (160°C) e pressão específica (2,0 MPa), mostraram ser mais eficientes para a colagem de lâminas com filme fenólico;
- O emprego de maior temperatura de prensagem reduz substancialmente o tempo de permanência dos painéis na prensa e melhora a qualidade da ligação adesiva;
- A aplicação de maior pressão específica contribui para melhor contato superficial entre as lâminas e favorece as condições de impregnação do filme fenólico sobre a superfície das lâminas adjacentes;
- Tanto para o teste seco, quanto para o teste de fervura, os painéis compensados colados com filme fenólico apresentaram resultados altamente satisfatórios, quando comparados aos compensados estruturais de pinus, produzidos em escala comercial para a exportação.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABIMCI - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA DA MADEIRA PROCESSADA MECANICAMENTE. **Estudo setorial – produtos de madeira sólida**. Curitiba. 67p. 1993.

ABIMCI - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA DA MADEIRA PROCESSADA MECANICAMENTE. **Compensado de Pinus – Catálogo técnico nº 1**. Curitiba. 20p. 2002.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. Plywood – bonding quality. **Norma CEN**. 1993.

KOLLMAN, F.F.P.; KUENZI, E.W.; STAMM, A.J. **Principles of wood science and technology**. Berlin: Springer-Verlag. 703p. 1975.

MARRA, A.A. **Technology of wood bonding**. New York: Van Nostrand Reinhold. 453p. 1992.

NOCK, H.P.; RICHTER, H.G. **Adesão e adesivos**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 93p. 1978.

PIZZI, A. **Wood adhesives, chemistry and technology**. New York: Marcel dekker Inc. 364p. 1983.

## PADRÃO ESPACIAL DE DIVERGÊNCIA EM POPULAÇÕES DE *Eugenia dysenterica* DC UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Maria Imaculada Zucchi<sup>1</sup>

José Baldin Pinheiro<sup>2,3</sup>

Ananda Virginia Aguiar<sup>3</sup>

Lázaro José Chaves<sup>3</sup>

Alexandre Siqueira Guedes Coelho<sup>4</sup>

Roland Vencovsky<sup>2,3</sup>

### RESUMO

Neste trabalho se avaliou o padrão espacial de divergência, em populações de *Eugenia dysenterica*, com a finalidade de conservar esta espécie nativa. Verificou-se através da autocorrelação espacial das frequências alélicas, com sete marcadores microssatélites, contendo 73 alelos, a divergência genética e o padrão da variabilidade alélica espacial das populações. Utilizou-se os índices I de Moran estimados em quatro classes de distâncias geográficas. A correlação entre matriz de distâncias geográficas e genéticas ( $r=0,872$ ), indica que as distâncias geográficas possuem um padrão espacial de variabilidade. O correlograma mostrou que a divergência genética está estruturada no espaço em um padrão clinal de variação. Observou-se um fluxo a curtas distâncias e deriva genética dentro das populações locais, sugerindo desta forma o modelo de isolamento-por-distância.

**Palavras-chaves:** autocorrelação espacial, cagaiteira, cerrado

### ABSTRACT

#### SPATIAL AUTOCORRELATION OF DIVERGENCE IN POPULATIONS OF *Eugenia dysenterica* DC USING SSR MARKERS

in this study spatial autocorrelation of the allelic frequencies and the correlation between matrices of genetic and geographic distances were evaluated by the analyses of the spatial autocorrelation divergence. Genetic and spatial structure of these populations were analyzed using seven microsatellite markers containing 73 alleles. Genetic diversity and the pattern of allelic variability of *Eugenia dysenterica* populations were evaluated in order to provide essential information for the conservation of the species. Analysis of spatial autocorrelation was made by estimating Moran I index in four classes of geographic distances. The correlation between geographic and genetic-distance matrices ( $r=0.872$ ) indicated that the geographic distances have variable spatial pattern. The correlation graph showed that the genetic divergence is ordered in space in a clinal pattern of variation. Restricted gene flow and genetic drift inside the populations suggest that the model of isolation-by-distance can be applied.

**Key words:** spatial autocorrelation, cagaita tree, cerrado

<sup>1</sup> Centro de Pesquisa & Desenvolvimento em Recursos Genéticos Vegetais – IAC, CP 28, 13001-970, Campinas-SP, Brasil. mizucchi@iac.sp.gov.br

<sup>2</sup> Departamento de Genética – ESALQ/USP – Av. Pádua dias, 11 CP 83, 13400-970, Piracicaba-SP, Brasil. baldin@esalq.usp.br, rvencovs@esalq.usp.br

<sup>3</sup> Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás –Campus Samambaia, CP 131, 74001-970, Goiânia-GO, Brasil. lchaves@agro.ufg.br, anandav@bol.com.br

<sup>4</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás –Campus Samambaia, CP 131, 74001-970, Goiânia-GO, Brasil. acoelho@icb1.ufg.br

Recebido para publicação em 2004

## INTRODUÇÃO

Os marcadores microssatélites (SSR, single sequence repeat) têm sido utilizados nos estudos de populações naturais (Collevatti et al., 1999, Daynandan et al., 1997; Danquah et al., 2002; Lopes et al., 2002), pois são altamente polimórficos quando comparados com outras classes de marcadores. Pelas suas propriedades são ferramentas para responder a diversas questões sobre a genética de populações, o fluxo gênico e análises de paternidade (Wright & Bentzen, 1994), entre outros aspectos.

O conhecimento da estrutura genética populacional é importante para orientar na conservação das espécies. Essa estrutura genética refere-se à distribuição da variabilidade entre e dentro de populações; sua formação resulta de vários fatores, como: o sistema de acasalamento, níveis de endogamia, fluxo gênico, bem como a deriva genética entre e dentro das populações.

O conhecimento dos fatores evolutivos responsáveis pela estruturação genética de populações naturais de uma espécie, bem como a forma como os indivíduos se dispersam em uma determinada escala local, pode levar a estratégias mais seguras para conservação genética dessa espécie. Porém, estudos sobre dispersão em plantas são escassos, levando a inferir, na maioria das vezes, que as populações estão freqüentemente subdivididas em uma escala local, como resultado da heterogeneidade ambiental ou da deriva local (Levin & Kester, 1974; Heywood, 1991).

Segundo Loveless & Hamrick (1984), geralmente assume-se que os padrões espaciais e genéticos são resultantes da heterogeneidade ambiental e de pressões seletivas diferenciais. Enquanto padrões espaciais freqüentemente têm implicações genéticas, os padrões genéticos não aleatórios podem existir sem uma distribuição espacial não aleatória dos indivíduos. De forma contrária, uma população pode ter uma distribuição espacial não aleatória sem qualquer acompanhamento da estrutura genética.

Atualmente, as análises da estrutura genética referem-se a caracterização de populações (heterozigosidade esperada e observada, porcentagem de locos polimórficos, número de locos polimórficos, etc) e à distribuição da variabilidade, medida através das estatísticas F de Wright (Wright, 1951) ou parâmetros análogos. Apesar da importância destas estatísticas, elas permitem apenas uma descrição geral da heterogeneidade espacial da variabilidade existente (Barbujani, 1987).

As inferências sobre os processos microevolutivos atuando nas populações podem ser efetuadas de forma mais completa com a utilização de técnicas mais elaboradas

de análise espacial (Epperson, 1997). A análise de autocorrelação espacial (Sokal & Oden, 1978 a, b; Heywood, 1991) é um procedimento mais geral e mais eficiente para descrever “superfícies” de variação genética complexas, avaliando a semelhança entre valores das freqüências alélicas nas subpopulações vizinhas espacialmente e como essa semelhança se altera à medida que se modifica a escala geográfica (Telles et al., 2001a)

Esses modelos de análise de autocorrelação espacial foram desenvolvidos principalmente por geógrafos ingleses e aplicados à biologia, a partir dos trabalhos de Sokal & Oden (1978 a, b). Atualmente têm sido aplicados a estudos populacionais com plantas como os estudos de Moraes (1997), Telles (2001a) e Epperson (1997).

*E. dysenterica* é uma das espécies vegetais do Cerrado que vem sendo enfocada nos estudos populacionais, sendo conhecida vulgarmente como cagaiteira, uma frutífera nativa de habitat comum da região de Cerrados. Ela apresenta potencial de utilização em sistemas tradicionais de produção agrícola (Almeida, 1998). As frutíferas nativas do Cerrado são espécies de diversos gêneros e famílias que produzem frutos de interesse tanto para a alimentação regional quanto para a industrialização. Há um mercado potencial e crescente para as frutas nativas sendo, porém, pouco exploradas pelos agricultores. Todo o aproveitamento desses frutos tem sido feito de forma extrativista.

O objetivo deste trabalho foi avaliar padrões espaciais da variação genética de marcadores microssatélites em dez populações de cagaiteira, uma frutífera comum da região de cerrados, do Sudeste do estado de Goiás; bem como verificar os processos de microevolução que estão atuando na diferenciação genética dessas populações e assim fornecer informações para programas de conservação e domesticação da espécie e obter outras estimativas de parâmetros populacionais afins.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal

O material vegetal utilizado foi constituído de folhas jovens de 116 indivíduos coletados em 10 populações naturais de *E. dysenterica* localizadas na região Sudeste do Estado de Goiás. De cada população foram coletadas cerca de 12 plantas. Esses indivíduos foram submetidos a genotipagem utilizando marcadores microssatélites. As amostras de folhas das populações foram coletadas nos seguintes municípios de Goiás: Catalão (POP1, POP2 e POP3); Três Ranchos (POP4); Campo Alegre de Goiás (POP5 e POP6); Cristalina (POP7); Luziânia (POP8); Goiânia (POP9 e POP10). As localidades onde foram coletadas as amostras vegetais e o número de árvores amostradas, podem ser observadas na Tabela 1.

V. 11, n.1, p. 29 - 38, ago./dez. 2004

**Tabela 1.** Localidades do Estado de Goiás e número de árvores amostradas de *Eugenia dysenterica* com suas respectivas informações geográficas.**Table 1.** Sites in the state of Goiás and the number of trees of *Eugenia dysenterica* sampled with their respective geographic information.

Áreas	LocalidadeMunicípio	Número de árvores amostradas	Altitude (m)	Latitude	Longitude
1	Catalão	12	880	18°07' 35"	47°54' 20"
2	Catalão	12	860	18°02' 0,3"	48°02' 31"
3	Catalão	12	800	18°13' 39"	47°58' 12"
4	Três Ranchos	12	820	18°17' 15"	47°48' 41"
5	Campo Alegre de Goiás	12	930	17°39' 11"	47°46' 37"
6	Campo Alegre de Goiás	12	780	17°34' 24"	47°42' 12"
7	Cristalina	5	890	17°10' 47"	47°31' 07"
8	Luziânia	11	900	16°28' 48"	47°48' 40"
9	Goiânia	16	740	16°40' 30"	49°14' 42"
10	Senador Canedo	12	840	16°37' 13"	49°04' 29"

#### Extração de DNA e condições de amplificação

A partir de amostras foliares extraiu-se o DNA para análise de microssatélites, conforme o protocolo descrito por Murray & Thompson (1980) e Rogers & Bendich (1985), com modificações. A partir dessas amostras de DNA, foram feitas as reações de amplificações, conforme Brondani et al. (1998). Foram selecionados dez pares de iniciadores de um total de 356 desenvolvidos para *Eucalyptus* por Brondani et al. (1998).

Para a reação de amplificação utilizaram-se 15 ng de DNA genômico num volume de 25 mL contendo 50mM KCl, 20mM Tris-HCl pH 8.8; 1,5mM MgCl<sub>2</sub>; 10mM dNTPs; 0,2 mM de cada primer (forward + reverse) e 1U de Taq polimerase, conforme Zucchi et al. (2002).

O protocolo de PCR consistiu de uma prévia denaturação inicial a 96°C por 3 min, seguido por 30 ciclos da 94°C por 30 sec, 60°C por 1 min, 72°C por 1 min, e o último passo para extensão a 72°C por 7 min. Os fragmentos amplificados foram separados em gel de poli-acrilamida 4%, em corrida com 1X TBE a 2000 V por 2h, e corados com nitrato de prata. Utilizou-se como marcador de peso molecular um *ladder* de 10 bp.

Análise da diversidade gênica

A partir da análise dos géis, foram obtidas as frequências alélicas e genotípicas de cada loco, considerando o total de plantas analisadas em cada população. A diversidade genética e as estatísticas F foram estimadas sob modelo aleatório de acordo com Weir (1996), em que as populações amostradas são consideradas como representativas da espécie e com uma história evolutiva comum. A análise de variância dos dados foi realizada considerando os seguintes níveis de hierarquia: populações (s), indivíduos (n) e genes (g=2) em organismos

diplóides, segundo Cockerham (1969). O parâmetro de fluxo gênico (Nm) foi estimado a partir da estatística  $F_{ST}$  segundo Wright (1951). Para obter estas estimativas foi utilizado o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2000). Utilizou-se a distância genética padrão de Nei (1978) para mensurar a diversidade entre todos os pares de populações.

#### Correlação entre distâncias genéticas e geográficas

Com a finalidade de analisar os padrões de variação espacial, obteve-se a estimativa do coeficiente de correlação de Pearson (r) entre matrizes de distâncias genéticas de Nei (M) e as distâncias geográficas (E) entre as populações. A significância desta correlação matricial foi testada pelo estatística Z de Mantel (1967), utilizando 9999 permutações aleatórias, para isto foi utilizado o programa NTSYS (Rolf, 1989).

#### Análise de autocorrelação espacial

A análise de autocorrelação espacial foi utilizada para investigar a estrutura espacial das populações de cagaiteira, utilizando, para tanto, os alelos de cada árvore adulta. Dessa forma, foram analisados 73 alelos, provenientes de sete locos polimórficos.

O padrão espacial foi mensurado através do Índice Ide Moran (1950), conforme detalhado por Diniz-Filho (1998).

Nesse trabalho foram utilizadas todas as comparações dentro de uma classe de distância determinada. Dessa forma, cada frequência alélica foi analisada por um correlograma espacial construído utilizando os índices I de Moran estimados em quatro classes de distância espacial, com os seguintes limites (em Km): 54, 122, 190 e 235. Estas classes foram estabelecidas de modo a manter aproximadamente constante o número de populações conectadas em cada uma delas, tornando assim os índices I de Moran

comparáveis e com erros de estimativas semelhantes.

Para obtenção das matrizes de distâncias genéticas de Nei e a correlação entre as matrizes de distâncias genéticas e geográficas foi utilizado o programa NTSYS (Rohlf, 1989). O programa SAAP 4.3 (*Spatial Autocorrelation Analysis Program*) foi utilizado para as análises de autocorrelação espacial dos dados dos marcadores microssatélites e testes de significância, segundo o critério de Bonferroni (Wartenberg, 1989).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de fixação da espécie ( $\hat{F}_{IS}$ ), estimado com base nos sete locos de SSR (73 alelos), não diferiu de

zero. Sendo este uma medida da endogamia localizada devida ao sistema reprodutivo, pode-se afirmar que a espécie é panmítica.

O valor de  $F_{ST}$  (variação entre populações) foi igual a 0,25; isto significa que existe uma alta variabilidade entre populações. Esta estimativa foi significativamente diferente de zero, como pode se observar na Tabela 2. O parâmetro Nm, estimado com base na estimativa de  $F_{ST}$ , resultou no valor de 0,750 indivíduos, indicando uma taxa de migrantes entre as populações (Tabela 2). Este valor pode ser considerado como indício que as populações encontram-se em um processo de diferenciação e com possível comprometimento de sua estrutura metapopulacional.

**Tabela 2.** Estimativa das estatísticas F de Wright e do número de migrantes por geração (Nm) em 10 populações naturais de *Eugenia dysenterica*. Intervalo de confiança (IC) de 95% de probabilidade.

**Table 2.** Estimates of the statistic Wright F analysis and of the number of migrants per generation (Nm) in 10 natural populations of *Eugenia dysenterica*. Confidence interval (IC) used was of 95% of probability.

	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	Nm
Estimativa	-0,017	0,238	0,250	0,750
Limite Superior (IC 95%)	0,1343	0,3881	0,3485	0,7663
Limite Inferior (IC 95%)	-0,2765	0,0250	0,1941	0,4424

$F_{IS}$ : endogamia devido ao sistema reprodutivo

$F_{IT}$ : endogamia total da espécie (devido ao sistema reprodutivo e subdivisão)

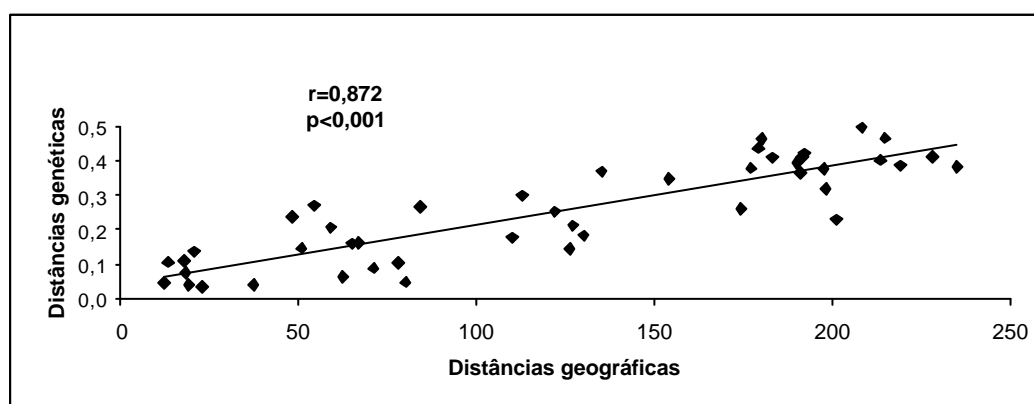
$F_{ST}$ : endogamia devido a subdivisão

Nm fluxo gênico, ou seja, número de migrantes por geração

### Correlação entre distância genética e geográfica

A correlação matricial entre as distâncias genéticas e geográficas foi elevada ( $r=0,871$ ) e significativa a 1% de

probabilidade ( $p=0,002$ ) (figura 01). Esse resultado indica que estas distâncias estão fortemente correlacionadas de modo positivo, ou seja, conforme aumenta a distância entre os indivíduos, as distâncias genéticas se tornam maiores.



**Figura 1.** Correlação entre as distâncias genéticas de Nei e as distâncias geográficas entre 10 populações de *Eugenia dysenterica*.

**Figure 1.** Correlation between Nei genetic distances and geographic distances among 10 populations of *Eugenia dysenterica*.



**Autocorrelação espacial**

Dos 292 índices I de Moran (73 frequências alélicas em 4 classes de distância) obtidos na análise de autocorrelação espacial, 100 foram significativos a 5% de

probabilidade (Tabela 3). Utilizando o critério de Bonferroni, 44 dos 73 correlogramas podem ser considerados significativos a 6% de probabilidade, ou seja expressam um padrão espacial geral da variável.

**Tabela 3.** Índices I de Moran para quatro classes de distância entre as 10 populações de *Eugenia dysenterica*. Em negrito estão os valores significativos para *p*.

**Table 3.** Moran I indexes for four classes of distance among the 10 populations of *Eugenia dysenterica*. Significant *p* and *p* values are shown in bold.

Classes de distância (Km)		54	122	190	235	<i>P</i>
Locos	Alelos					
EMBRA - 4	1	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	2	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	3	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	4	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	5	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	6	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	7	-0,03	-0,32	-0,10	-0,01	0,352
	8	0,11*	-0,09	-0,39	-0,07	<b>0,091</b>
	9	0,11	-0,18	-0,05	-0,31	0,518
	10	0,26	0,29*	-0,26	-0,68**	<b>0,017</b>
	11	-0,29	-0,09	0,01	-0,07	0,350
	12	-0,09	0,08	-0,16	-0,25	0,835
	13	0,11	0,07	0,07	-0,64**	<b>0,013</b>
	14	0,03	-0,10	-0,10	-0,26	0,918
	15	0,56**	0,24*	-0,38	-0,80**	<b>0,001</b>
	16	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,296
	17	-0,29	-0,09	0,01	-0,07	0,350
	18	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	19	0,13	0,04	0,04	-0,61**	<b>0,027</b>
	20	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	21	0,11*	-0,09	-0,39*	-0,07	<b>0,091</b>
	22	0,49**	0,09	-0,32	-0,66**	<b>0,023</b>
EMBRA - 210	1	-0,16	-0,02	-0,51*	0,22*	0,137
	2	0,11*	-0,09	-0,39*	-0,07	<b>0,091</b>
	3	-0,13	-0,12	0,01	-0,20	0,794
	4	0,11*	-0,09	-0,39*	-0,07	<b>0,091</b>
	5	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	6	-0,20	-0,12	-0,05	-0,08	1,000
	7	-0,21*	0,16*	-0,18	-0,59**	<b>0,004</b>
	8	0,15	-0,04	-0,08	-0,45*	0,117
	9	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	10	-0,57**	0,25*	-0,45	-0,76**	<b>0,002</b>
	11	-0,11	-0,27	0,04	-0,11	0,994
	12	0,01	0,11	-0,09	0,44*	<b>0,053</b>
	13	0,41	0,11	-0,00	-0,89	<b>0,000</b>
	14	-0,11	-0,12	-0,30	0,06	0,773
EMBRA - 64	1	0,21	0,15	-0,70**	-0,11	<b>0,029</b>
	2	0,40*	0,02	-0,78**	-0,08	<b>0,010</b>
	3	-0,11	-0,24	-0,14	0,02	0,933
	4	0,56**	0,24*	-0,45	-0,74**	<b>0,003</b>

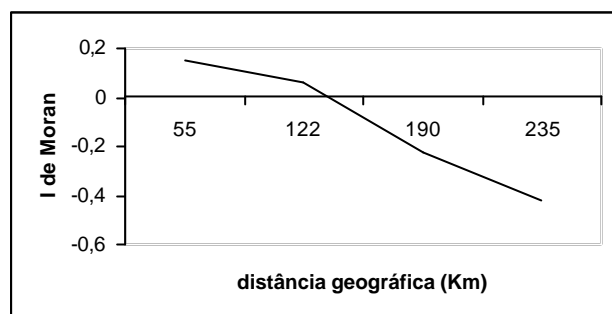
Tabela 3. Continuação  
Table 3. Continued

Classes de distância (Km)		54	122	190	235	P
Locos	Alelos					
EMBRA - 22	1	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	2	0,41*	0,18	-0,57*	-0,44	<b>0,054</b>
	3	0,27*	-0,26	0,03	-0,45*	0,160
	4	0,01	0,10	-0,08	-0,44	0,235
	5	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	6	0,56**	0,24*	-0,38	-0,80*	<b>0,001</b>
	7	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	8	0,52**	0,23*	-0,45*	-0,69**	<b>0,004</b>
	9	0,48**	0,22*	-0,45*	-0,65**	<b>0,005</b>
	10	0,53**	0,23*	-0,36	-0,79**	<b>0,001</b>
	11	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	12	0,01	0,11	-0,09	-0,44**	<b>0,053</b>
EMBRA - 3	1	0,59**	0,25*	-0,43	-0,79*	<b>0,001</b>
	2	0,29*	-0,03	-0,20	-0,47*	0,066
	3	0,58**	0,25*	-0,45	-0,76**	<b>0,002</b>
EMBRA - 172	1	-0,19	-0,23	0,19	-0,21	0,434
	2	-0,21	-0,13	0,18	-0,27	0,434
	3	0,46**	-0,17	0,31*	-0,96**	<b>0,000</b>
	4	0,50**	0,23	-0,45*	-0,67**	<b>0,005</b>
	5	0,01	0,11	-0,09	-0,44	<b>0,053</b>
EMBRA - 2	1	0,60**	0,17	-0,13	-1,00**	<b>0,000</b>
	2	0,01	0,11	-0,09	-0,44**	<b>0,053</b>
	3	0,55*	0,24*	-0,45	-0,72**	<b>0,003</b>
	4	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	5	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	6	0,01	0,11	-0,09	-0,44*	<b>0,053</b>
	7	0,35**	0,19*	-0,42*	-0,53**	<b>0,013</b>
	8	0,54**	0,24*	-0,37	-0,79**	<b>0,001</b>
	9	0,57**	0,25*	-0,40	-0,80	<b>0,001</b>
	10	0,35**	0,19*	-0,42*	-0,53**	<b>0,013</b>
	11	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	12	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269
	13	0,01	0,11	-0,29	-0,26	0,269

P: significância segundo o critério de Bonferroni - \* e \*\*: significativo a 5% e 1%, respectivamente.

Os correlogramas apresentaram índices I de Moran positivos e significativos na primeira classe de distância, associados a valores negativos e significativos na última classe de distância, indicando assim um padrão clinal de variação espacial para o correlograma médio (Figura 02). Desta forma, populações localizadas a distâncias geográficas inferiores a 54 Km tendem a ser similares para as frequências alélicas, sendo que essa semelhança diminui com o aumento da distância, até que as populações situadas a mais de 200 Km tendem a ser completamente diferentes para essas frequências. Esse padrão clinal é confirmado pelas correlações negativas e significativas entre o I de Moran e a classe de distância para maior parte dos alelos (Tabela 3).

Em geral os correlogramas apresentaram índices I de Moran positivos e significativos na primeira classe de distância, associados a valores negativos e significativos na última classe, indicando um padrão clinal de variação espacial para o correlograma médio (Figura 2). Assim populações situadas a distâncias geográficas menores que 130 Km tendem a ser similares para as frequências alélicas, sendo que esta semelhança decai com o aumento da distância, até que populações situadas a mais de 190 Km sejam completamente diferentes para estas frequências. Esse plano clinal é confirmado pelas correlações negativas e significativas entre o I de Moran e a classe de distância, para a maior parte dos alelos (Tabela 3).



**Figura 2.** Correlograma médio para as frequências alélicas (73 alelos) de 10 populações de *Eugenia dysenterica*.

**Figure 2.** Mean correlational graph for the allelic frequencies (73 alleles) of 10 populations of *Eugenia dysenterica*.

A análise das estatísticas F de Wright, ou seja, dos coeficientes de endogamia mostram que as estimativas do  $F_{IT}$  (endogamia total) e  $F_{ST}$  (endogamia entre populações) foram significativas e diferentes de zero. Porém, as do  $F_{IS}=f$  (endogamia intrapopulacional) foram iguais a zero, sugerindo que a espécie é alógama e que a endogamia total ( $F_{IT}$ ) da espécie foi gerada pela deriva genética. O alto valor encontrado de  $F_{ST}$  e, conseqüentemente, o baixo valor da estimativa do fluxo gênico ( $Nm$ ), sugere que o fluxo gênico não tem sido suficiente para contrapor os efeitos da deriva (Tabela 02).

A partir da diferença detectada pelo índice  $F_{ST}$  foi verificado que há uma alta variabilidade entre população; o que levou a questionar como está estruturada espacialmente esta variabilidade (Tabela 02).

A correlação entre a matriz de distâncias geográficas com distâncias genéticas, obtida através de 73 alelos de marcadores SSR, foi igual a 0,872, sendo uma correlação alta e forte; o que indica existir um padrão espacial da variabilidade genética. Telles et al. (2001a) estudou 10 populações de *Eugenia dysenterica* com nove sistemas enzimáticos obtendo 27 alelos; a correlação obtida entre a matriz de distâncias geográficas e matriz genéticas foi igual a  $r=0,725$ , sendo estes resultados concordante com os encontrados neste estudo.

A análise de autocorrelação espacial vem descrever com maior clareza o padrão espacial das frequências alélicas. Nos correlogramas obtidos com os 73 alelos de SSR o intercepto está em torno de 130 Km, resultado que é similar ao encontrado por Telles et al. (2001a) utilizando marcadores isoenzimáticos; neste estudo, o correlograma obtido pelas frequências alélicas entre as 10 populações demonstrou que o fluxo gênico tem alcance de 60-120 Km. Sugere-se que o fluxo possa chegar a 130 km.

V. 11, n.1, p. 29 - 38, ago./dez. 2004

Epperson & Chung (2001) analisaram a estrutura genética espacial de padrões de polimorfismo dentro de populações de *Pinus strobus* (Pinaceae), e verificaram que o fluxo gênico entre indivíduos dentro das populações enquadra-se no modelo de isolamento por distância. A espécie possui restrito fluxo gênico e a estrutura espacial sugere ser decorrente da depressão por endogamia devido a cruzamento biparentais entre indivíduos mais próximos. Por outro lado, Dewey & Heywood (1988) não encontraram nenhuma estrutura espacial significativa para *Psychotria nervosa*, uma espécie do subbosque das florestas do Caribe e América Central. Gandara (1996) e Maltez (1997) encontraram resultados semelhantes aos dos autores anteriormente citados para as espécies *Cedrella fissilis* e *Aspidosperma polyneuron*, respectivamente.

Segundo Manly (1991) uma correlação entre divergência genética e distância geográfica pode ser esperada sob diferentes modelos de evolução. As populações podem divergir sob um processo estocástico simples (deriva), contrabalançado por fluxo gênico em curtas distâncias gerando o padrão conhecido como isolamento por distância (Wright, 1943) ou *stepping-stone* (Kimura & Weiss, 1964), na dependência da espécie apresentar distribuição discreta ou contínua dos indivíduos na população. Outro modelo possível sugere que pressões seletivas também estejam estruturadas no espaço geográfico, gerando conseqüentemente estruturação espacial da divergência genética.

Pressume-se que os locos de microssatélites são neutros. Segundo Telles et al. (2001a), as análises realizadas permitiram avaliar os padrões espaciais de variação genética entre as populações de cagaiteira e tentar inferir que os processos microevolutivos estão envolvidos nesta variação. Esses padrões podem ser melhor compreendidos quando se considera também outros aspectos da biologia da planta, já que esses padrões são, na verdade, determinados pela complexa interação que existe entre os fatores genéticos e ecológicos aos quais estes organismos são submetidos.

Segundo Proença & Gibbs (1994), as abelhas são os principais polinizadores da cagaiteira e sua dispersão é realizada principalmente por macacos e pelo homem. A polinização e dispersão por animais não devem ter um alcance muito grande uma vez que a área estudada já encontra-se fragmentada, não havendo, de modo geral, corredores ligando estas populações que facilitem a movimentação dos dispersores. Entretanto, o moderado limite de polinização e dispersão provavelmente interfira na estrutura espacial das populações, ocasionando um isolamento por distância (Telles et al., 2001b).

35

As análises também permitiram avaliar os padrões espaciais de variação genética entre as populações de cagaiteira e inferir que processos microevolutivos estão mais envolvidos nesta variação. Os padrões espaciais de diferenciação observados neste trabalho são coerentes com o sistema reprodutivo da cagaiteira (alogamia) e o modo de polinização e dispersão de seus frutos. Portanto, além dos próprios aspectos da biologia da espécie, um fator importante que deve ser levado em conta, para explicar os padrões espaciais encontrados neste estudo, é o avançado processo de fragmentação, causado principalmente pela expansão da fronteira agrícola na região do Cerrado. Esse processo reduz o tamanho das populações, provocando a deriva e contribui para a redução do fluxo gênico entre estas populações (Telles et al., 2001b).

As medidas de estruturação genéticas obtidas com microssatélites indicaram um valor do  $F_{ST} = 0,25$  (Zucchi et al. 2002), que é alto, sendo que esta representa uma medida histórica do fluxo gênico. Segundo Donadio et al. (1992), a cagaiteira é uma planta perene de ciclo longo e sugere que o processo de fragmentação é relativamente recente. Logo, a divergência entre populações deve-se tornar maior no futuro.

O conhecimento da forma como a variabilidade genética está estruturada no espaço, aliado às outras características da espécie, pode fornecer também subsídios para programas de conservação do germoplasma, manejo sustentável, domesticação e melhoramento genético da espécie (Moraes et al., 1999). O intercepto dos perfis dos correlogramas é normalmente interpretado como sendo o raio médio de alcance do fluxo gênico. Nos correlogramas obtidos com 73 alelos de SSR em cagaiteira, o intercepto está em 130 Km, resultado que foi similar ao encontrado por Telles et al. (2001b). As análises realizadas sugerem que processos estocásticos, tais como modelo de isolamento-por-distância ou *stepping-stone*, são os mais adequados para explicar o padrão de divergência espacial entre populações de cagaiteira de região de Goiás. Este padrão de variação fornece subsídios para a utilização em programa de conservação e domesticação da espécie.

## CONCLUSÕES

O alto valor encontrado da estimativa de  $F_{ST}$  e conseqüentemente o baixo valor da estimativa do fluxo gênico (Nm), sugere que este fluxo é restrito e não tem sido suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética.

Os resultados obtidos sugerem também que processos estocásticos, tais como o modelo de isolamento-por-distância ou alternativamente o do “stepping-stone”,

são mais adequados para explicar o padrão espacial de divergência genética entre subpopulações de *Eugenia dysenterica* do Sudeste do Estado de Goiás.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do cerrado: Caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA-CPAC, Planaltina, 1998. 556p.

BARBUJANI, G. Autocorrelation of gene frequencies under isolation-by-distance, **Genetics**, v.177, p.772-782, 1987.

BRONDANI, R.P.V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.97, p.816-827, 1998.

COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies, **Evolution**, v.23, p.72-84, 1969.

COLLEVATTI, R.G.; BRONDANI, R.V.; GRATTAPAGLIA, D. Development and characterization of microsatellite markers for genetic analysis of a Brazilian endangered tree species *Caryocar brasiliense*. **Heredity**, v.83, n.6, p.748-756, 1999.

DANQUAH, E.Y.; HANLEY, S.J.; BROOKES, R.C.; ADAM, C.; KARP, A. Isolation and characterization of microsatellites in *Echinochloa* (L.) Beauv. spp. **Molecular Ecology Notes**, v.2, n.1, p.51-56, 2002.

DAYNANDAN, S.; BAWA, K.S.; KESSELLI, R. Conservation of microsatellites among tropical tree (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v.84, n.12, p.1658-1663, 1997.

DEWEY, S.E.; HEYWOOD, J.S. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. **Evolution**, v.42, n.4, p.834-838, 1988.

DINIZ-FILHO, J.A.F. **Análise de Autocorrelação espacial: inferências microevolutivas e aplicações em genética de populações**. In: Série monografias- n.6- Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de genética, p.82-145, 1998.

DONADIO, L.C.; MARTINS, A.B.G.; VALENTE, J.P. **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 268p.

EPPELSON, B.K. Gene dispersal and spatial genetic structure. **Evolution**, v.51, n.3, p.672-681, 1997.

V. 11, n.1, p. 29 - 38, ago./dez. 2004

- EPPERSON, B. K.; CHUNG, M. G. Spatial genetic structure of allozyme polymorphism within populations of *Pinus strobes* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, p.1006-1010, 2001.
- GANDARA, F.B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em população de *Cedrella fissilis* Vell. (Meliaceae)**. Campinas, 1996. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- HEYWOOD, J. S. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. **Annual Review of Ecology Systematic**, v.22, p.335-355, 1991.
- LEVIN, D.A.; KESTER, H.W. Gene flow in seed plants. **Evolutionary Biology**, V.7, p.139-220, 1974.
- LEWIS, P.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data (software) 2000**. version 1.0(d12). <http://allevyn.eeb.uconn.edu/gda/> (21 Nov. 2002)
- KIMURA, M.; WEISS, G. The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. **Genetics**, V.49, p.561-579, 1964.
- LOPES, M.S.; SEFC, K.M.; LAIMER, M; MACHADO, da C. A. Identification of microsatellite loci in apricot. **Molecular Ecology Notes**, V2, n.1, p.24-26, 2002.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, V.15, p. 65-95, 1984.
- MALTEZ, H.M. **Estrutura genética de *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg.- Apocynaceae (peroba rosa) em uma floresta estacional semidecidual no Estado de São Paulo**. Campinas, 1997. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Instituto de Biologia, Universidade estadual de Campinas.
- MANLY, B.F.J. **Randomization and Monte Carlo Methods in Biology**. Chapman and Hall, London, 281p, 1991.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalised regression approach. **Cancer Research**, V27, p.209-220, 1967.
- MORAES, P.L.R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius Ex Nees (Lauraceae)**. Piracicaba, 1997. 177p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MORAN, P.A.F. Notes on continuous stochastic phenomena. **Biometrika**, V.37, p.17-23, 1950.
- MURRAY, M.G.; THOMPSON, W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Reserch**, V.8, p.1134-1137, 1980.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, V.89, n.3, p.583-590, 1978.
- PROENÇA, C.E.B.; GIBBS, P.E. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist**, V126, p.343-354, 1994.
- ROGERS, S.O.; BENDICH, A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plants tissues. **Plant Molecular Biology**, V.5, p.69-76, 1985.
- ROLF, F.J. (1989) **NTSYS-Pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. Exeter publisher, New York
- SOKAL, R.R.; ODEN; N.L. Spatial autocorreltion in biology. 1. Methodology. **Biological Journal of the Linnean Society**, V.10, p.199-228, 1978a .
- SOKAL, R.R.; ODEN; N.L. Spatial autocorreltion in biology. 2. Somebiological implications and four applications of evolutionary and ecological interest **Biological Journal of the Linnean Society**, V.10, p.229-249, 1978b.
- SOKAL, R.R.; WATENBERG, D. A test of spatial autocorrelation using an isolation-by-distance model. **Genetics**, V.121, p.845-855, 1989.
- TELLES, M. P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J. Spatial autocorrelation of allelic frequencies in *Eugenia dysenterica* DC. subpopulations (Myrtaceae) in southeastern Goiás State. **Revista Brasileira de Botânica**, V.24, n.2, p.145-154, 2001a.
- TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V.36, n.11, p.1387-1394, 2001b.

WARTENBERG, D. **SAAP: Spatial autocorrelation analysis program**. Exeter publishers, New York, 1989.

WEIR, B.S. **Genetics data analysis II**: methods for discrete population genetic data. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 455p.

WRIGHT, J.M.; BENTZEN, P. Microsatellites: genetic markers of the future. **Review in Fish Biology and Fisheries**, V.4, p.384-388, 1994.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, V. 15, 223-354, 1951.

WRIGTH, S. Isolation by distance. **Genetics**, V.28, p.114-138, 1943.

ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.P.V.; PINHEIRO, J.B.; BRONDANI, C.; VENCOVSKY, R. Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus* spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family). **Molecular Ecology Notes**, V.3, n.4, 2002.

