

**RAFAELA LIMA DE ARAÚJO**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE ARAÇÁ  
(*Psidium guineense* Sw.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

**Recife-PE  
Janeiro, 2014**

**RAFAELA LIMA DE ARAÚJO**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE ARAÇÁ  
(*Psidium guineense* Sw.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Agronomia, Área de concentração em Melhoramento Genético de Plantas.

**ORIENTADORES**

**Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva (UFRPE) – Orientador**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luiza Suely Semen Martins (UFRPE) - Co-orientadora**

Recife-PE  
Janeiro, 2014

## Ficha catalográfica

A663d Araujo, Rafaela Lima de  
Diversidade e estrutura genética de populações de  
araçá (*Psidium guineense* Sw.) no Estado de Pernambuco /  
Rafaela Lima de Araujo. – Recife, 2013.  
90 f. : il.

Orientador: Edson Ferreira da Silva.  
Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de  
Plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Departamento de Agronomia, Recife, 2013.  
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

1. Isoenzima 2. Variabilidade genética 3. Araçá 4. Fluxo  
gênico I. Silva, Edson Ferreira da, orientador II. Título

CDD 581.15

**Diversidade e estrutura genética de populações de araçá (*Psidium guineense* Sw.) no Estado de Pernambuco**

**Rafaela Lima de Araújo**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: \_\_\_/\_\_\_/2014

**ORIENTADOR:**

---

**Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva  
(UFRPE)**

**EXAMINADORES:**

---

**Dr<sup>a</sup>. Maria Luciene da Silva  
(PNDP/CAPES/UFRPE)**

---

**Dr<sup>a</sup>. Gheysa Coelho Silva  
(DRPA/UFRPE)**

---

**Pesquisadora Ana Cecília Ribeiro de Castro  
(Embrapa - CNPAT)**

Recife – PE  
Janeiro, 2014

**Ofereço**

Ao meu namorado, Tiago Mariz.

**Dedico**

A minha filha, Amanda de Araújo Diniz e a minha tia, Verônica Lucena de Lima  
por acreditarem em mim e me apoiarem nos momentos mais difíceis.

## **Agradecimentos**

À Deus, por sua presença em minha vida guiando os meus passos.

A toda minha família, por acreditarem em mim e me apoiarem.

Ao professor Dr. Edson Ferreira da Silva, pela oportunidade.

Aos professores da Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, em especial a professora Luiza Suely Semen Martins e a professora Vivian Loges, pela simpatia e boa vontade em nos ajudar.

A Bernadete (Bety) pela sua paciência e ajuda ao nos atender na secretária de Pós-Graduação.

A turma 2011.2 da Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, em especial a Cláudia, minha amiga, confidente e irmã de coração.

Agradeço também a Dr<sup>a</sup>. Simone, pelas correções, ajuda, conselhos e amizade.

Agradeço a Cristina e Georgia pelos ensinamentos no laboratório, amizade e compreensão.

Enfim, a todos que contribuíram na minha formação e que alegraram meus dias durante a minha estada na UFRPE, o meu eterno, MUITO OBRIGADA!!!!

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1.</b> Arbusto de araçá ( <i>P. guineense</i> ) localizado na Ilha de Itamaracá .....	15
<b>Figura 2.</b> Flor do araçá ( <i>P. guineense</i> ).....	17
<b>Figura 3.</b> A) Mapa do Brasil evidenciando o Estado de Pernambuco; B) Estado de Pernambuco com a identificação dos locais de coleta de populações de <i>Psidium guineense</i> Sw.....	37
<b>Tabela 1.</b> Identificação das populações de araçá ( <i>P. guineense</i> Sw.) coletadas no Estado de Pernambuco, seus respectivos municípios, denominação das populações, número de amostras coletadas (n) e as coordenadas geográficas (latitude e longitude) maior e menor.....	36
<b>Tabela 2.</b> Frequência dos alelos observados em cada loco nas quatro populações estudadas de araçá ( <i>P. guineense</i> Sw.) .....	40
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros genéticos nas populações estudadas de araçá ( <i>P. guineense</i> Sw.) nos 18 locos enzimáticos estudados.....	41
<b>Tabela 4.</b> Identidade genética ( $G_I$ ), estimativa da divergência genética ( $F_{ST}$ ) não viesada calculadas segundo Nei (1978), distância geográfica e fluxo gênico ( $Nm$ ) para os pares de populações de araçá ( <i>P. guineense</i> Sw.) estudadas na Zona da Mata de Pernambuco.....	43
<b>Tabela 5.</b> Estimativas do coeficiente de endogamia dentro das populações ( $\hat{f}$ ), coeficiente de endogamia total nas populações ( $\hat{F}$ ) e divergência genética entre populações ( $\hat{\theta}_p$ ) de quatro populações naturais de <i>P. guineense</i> Sw. para os 18 locos isoenzimáticos.....	43

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	vi
RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
<b>Capítulo I – Considerações Gerais.....</b>	<b>10</b>
1. Introdução.....	11
2. Revisão de literatura.....	12
2.1 Família Mirtácea.....	12
2.2 O Araçá ( <i>Psidium guineense</i> Sw.) .....	13
2.2.1 Distribuição geográfica .....	13
2.2.2 Aspectos botânicos.....	14
2.2.3 Cariótipo .....	14
2.2.4 Importância econômica e ecológica .....	15
2.2.5 Floração, frutificação e dispersores.....	16
2.3. Estrutura e variação genética de populações naturais de plantas.....	17
2.4. Fluxo gênico.....	18
2.5. Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ).....	19
2.6. O uso de isoenzimas no estudo de populações naturais de plantas.	
2.6.1. A técnica .....	20
2.6.2. Interpretação dos resultados.....	21
2.6.3. Aplicação das isoenzimas no estudo de populações naturais de plantas.....	22
2.7. Referências Bibliográficas .....	23
<b>Capítulo II – Diversidade e estrutura genética de populações de araçá (<i>Psidium guineense</i> Sw.) no Estado de Pernambuco .....</b>	<b>32</b>
Resumo .....	33
Abstract .....	33
Introdução .....	34
Material e métodos .....	36
Resultados e discussão .....	39

Conclusão .....	44
ANEXOS .....	48

## RESUMO

A espécie *P. guineense*, conhecida popularmente como araçá, pertence à família Mirtáceas, que é originária da América do Sul apresentando uma ampla área de distribuição geográfica. Nos Estados do Nordeste Brasileiro, é encontrada no litoral, na região da Zona da Mata. O fruto do araçazeiro tem sabor que lembra um pouco o da goiaba, embora seja ligeiramente mais ácido e de perfume mais acentuado. A cultura do araçá (*P. guineense*) não possui expressão econômica no contexto da fruticultura nacional, não existindo, inclusive, pomares comerciais. Faz-se necessário, estudos de caráter genético a nível populacional, uma vez que existem poucas informações sobre aspectos ecológicos e genéticos da espécie. Com o intuito de disponibilizar informações sobre os recursos genéticos do araçá (*P. guineense*) no Estado de Pernambuco, os objetivos do presente trabalho foram avaliar a diversidade genética de quatro populações naturais de *P. guineense* distribuídas na Zona da Mata do Estado de Pernambuco e caracterizar a estrutura genética dessas quatro populações a partir de marcadores isoenzimáticos. Dezoito locos foram utilizados para estimar as frequências alélicas referentes aos 114 indivíduos, nas quatro populações: Itamaracá, Arariba, Marieta e Palmares. As populações apresentaram em geral, alto nível de polimorfismo com média de 1,5 alelos por loco. A heterozigosidade observada apresentou-se maior do que a esperada, onde  $\hat{H}_e$  variou entre 0,22 e 0,23 e  $\hat{H}_o$  variou entre 0,34 e 0,40. O índice de fixação variou de  $\hat{f} = -0,549$  a  $\hat{f} = -0,794$ , apresentando-se negativo para todos, indicando ausência de endogamia e excesso de heterozigosidade. O fluxo gênico estimado para as populações aos pares apresentou-se em geral elevado variando de  $N_m = 3,23$  a  $N_m = 20,77$  evidenciando alta proporção de migrantes entre populações.

**Palavras chave:** isoenzima, variabilidade genética, conservação *in situ*, fluxo gênico.

## ABSTRACT

The *Psidium guineense* species, popularly known as strawberry guava, belongs to the Myrtaceae family, which is native to South America having a broad geographical distribution. In the Brazilian Northeast, is found on the coast, in the Forest Zone region. The fruit of the strawberry guava flavor is slightly reminiscent of the guava, although it is slightly more acidic and sharper scent. The culture of strawberry guava (*P. guineense*) has no economic significance in the context of the national fruit production, not even existing commercial orchards. It is necessary, studies of genetic population level character, since there is little information on ecological and genetic aspects of the species. In order to provide information on the genetic resources of strawberry guava (*P. guineense*) in the State of Pernambuco, the objectives of this study were to evaluate the genetic diversity of four natural populations of *P. guineense* distributed in the Forest Zone of Pernambuco and characterize the genetic structure of these four populations from isozyme markers. Eighteen loci were used to estimate allele frequencies relating to 114 individuals in four populations: Itamaracá Arariba, Marieta and Palmares. Populations had generally high level of polymorphism and average of 1.5 alleles per locus. The heterozygosity observed was higher than heterozygosity expected, which ranged between 0.22 and 0.23 and the heterozygosity expected ranged between 0.34 and 0.40. The fixation index ranged from  $\hat{f} = -0.794$  to  $\hat{f} = -0.549$ , presenting all negative, indicating the absence of inbreeding and heterozygosity excess. The estimated population in pairs all showed gene flow are generally high, ranging from  $N_m = 3.23$  to  $N_m = 20.77$  showing a high proportion of migrants among populations.

Keywords: isozyme, genetic variability, *in situ* conservation, gene flow.

## **CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

---

## 1. Introdução

A América do Sul é considerada o continente detentor de maior biodiversidade do mundo. Sendo o Brasil o país que possui o maior número de ecossistemas do planeta, e, por conseguinte de espécies e alelos que diferenciam os indivíduos de cada espécie em determinada população (GUERRA et al., 1998; VILELA-MORALES; VALOIS, 2000; CLEMENT, 2001). Estima-se que 250 mil espécies de plantas já foram descritas em âmbito mundial e o Brasil é considerado o país mais rico, com cerca de 60 mil espécies, correspondendo a 22% do total, incluindo-se entre elas aproximadamente 500 espécies frutíferas. Porém, a maioria dessa biodiversidade ainda foi pouco estudada (ARAGÃO et al., 2002; VIEIRA NETO, 2002).

Dentre essas espécies, encontra-se o araçá (*P. guineense* Sw), pertence à família Mirtáceae, na qual estão agrupadas mais de 3.000 espécies em aproximadamente 140 gêneros (BEARDSELI et al., 1993; LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

De origem Sul americana, o araçá (*P. guineense*) apresenta uma ampla área de distribuição, ocorrendo nas restingas, tabuleiros, cerradões e capoeiras (BRANDÃO et al., 2002). No Nordeste do Brasil, é encontrado nas regiões litorâneas e na Zona da Mata, principalmente nas áreas dos tabuleiros costeiros, caracterizados por possuírem solos pobres, ácidos e arenosos (ANDRADE LIMA, 1960; CÔRREA, 1978; MATTOS 1993, DEMATTÊ, 1997).

Os araçazeiros se destacam pelas características dos seus frutos, que tem sabor exótico, elevado teor de vitamina C (RASEIRA; RASEIRA, 1996) e boa aceitação pelos consumidores, seja na forma *in natura* ou processada, como doce, geleias e sucos, apresentando ainda potencial de uso pela indústria nutracêutica (MANICA et al., 2002; FRANZON, 2004).

Apesar da ampla distribuição no território nacional e de seu potencial para exploração, até o momento não existem pomares comerciais de araçás.

As plantas de araçá existentes são geralmente espontâneas e na literatura encontram-se poucas informações sobre essa cultura (PIRES et al., 2002).

Na Zona da Mata Pernambucana, devido ao cultivo da cana-de-açúcar e do coqueiro, além da ocupação dos solos dessa região com pastagens e pecuária, várias espécies vêm sofrendo perda da variabilidade genética (erosão genética) inclusive o araçá (*P. guineense*) (BRANDÃO et al., 2002).

Á conservação das espécies em seus habitats requer o conhecimento da variabilidade e da estrutura genética de suas populações naturais, pois, o valor dos recursos genéticos de uma espécie está diretamente relacionado com a magnitude da variabilidade genética disponível (KAGEYAMA et al., 1998).

Sendo assim, é de fundamental importância o entendimento dos padrões de distribuição da variabilidade genética do araçá, pois estão associados à forma de distribuição dos alelos e genótipos dentro de uma população, fazendo com que os indivíduos sejam geralmente diferentes entre si em diversas características. Técnicas moleculares são usadas para acessar e quantificar esta variabilidade, mediante a junção de conceitos de ecologia e genética populacional. Dentre elas as isoenzimas são eficientes no estudo de diversidade e estrutura genética (KAGEYAMA, et al., 1998; BOTREL; CARVALHO, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética dentro e entre populações naturais de araçá (*P. guineense*) no Estado de Pernambuco, utilizando marcadores isoenzimáticos.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1. Família Mirtáceas**

A família das Mirtáceas, a qual engloba cerca de 140 gêneros e aproximadamente 3.000 espécies de árvores e arbustos que se distribuem por todos os continentes, exceto a Antártida (PEREIRA; NACHTIGAL, 2003).

Esta família tem sido organizada em duas subfamílias, Leptospermoideae e Myrtoideae, onde a última inclui todas as mirtáceas americanas, exceto o gênero monotípico *Tepualia* (MARCHIORI; SOBRAL,

1997). A nova classificação intra-família proposta por Wilson et al. (2005), reconhece duas sub-famílias, Myrtoideae e Psiloxylloideae, e 17 tribos.

O gênero *Psidium* está inserido no grupo Myrtoideae, o qual inclui todos os gêneros de espécies da família das Mirtáceas que apresentam frutos carnosos (LUGHADHA; PROENÇA, 1996), ou seja, frutos com sementes envolvidas por polpa carnosa, rica em água e carboidratos, e pobre em proteínas e lipídios (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

Muitas mirtáceas apresentam um elevado valor econômico, como o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), utilizado na produção de madeira e na produção de aromatizantes, e a goiabeira (*P. guajava*), fruteira muito apreciada pelas características de seus frutos, que são consumidos *in natura* ou industrializados (FRANZON, 2004).

Existem muitas outras mirtáceas nativas da flora brasileira que também produzem frutos comestíveis, porém, poucas são exploradas em escala comercial e, quando exploradas, a produção é pequena e limitada a determinadas regiões, como é o caso da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (BEZERRA et al., 2000), das jabuticabeiras (*Plinia* spp.) e do camu-camu (*Myrciaria dúbia*) (DONADIO et al., 2002), da feijoa (*Acca sellowiana*) (DUCROQUET et al., 2000) e do araçazeiro (*P. guineense*) (RASEIRA; RASEIRA, 1996).

## **2.2. O araçá (*P. guineense* Sw.)**

### **2.2.1. Distribuição geográfica.**

O araçá (*P. guineense*) é originário da América do Sul e apresenta ampla área de distribuição geográfica (BRANDÃO et al., 2002).

No Brasil ocorre naturalmente do Rio Grande do Sul à Amazônia, principalmente nas áreas litorâneas. Na região do Brasil Central, ocorre nos Estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Tocantins, e no Distrito Federal (BEZERRA et al., 2006). No Nordeste do Brasil, o araçá é encontrado no litoral, na região da Zona da Mata, principalmente nas áreas dos tabuleiros costeiros, caracterizados por possuírem solos pobres, ácidos e arenosos (MATTOS, 1993; DEMATTÊ, 1997).

### 2.2.2. Aspectos botânicos.

No araçá (*P. guineense*) as inflorescências durante o crescimento inicial, são cobertas com pelos marrom-avermelhados variando para cinza-amarelados, com cerca de 0,3 a 0,5 mm de comprimento. Os botões fechados medem 10 a 13 mm de comprimento com pedúnculos medindo entre 5 a 25 mm chegando até 30 mm de comprimento e 1 a 2 mm de espessura. O cálice no estado inicial é fechado completamente e repartido longitudinalmente em cinco pequenas partes. As pétalas têm um comprimento em torno de 7 a 11 mm; os estames são em número de cento e sessenta a trezentos medindo entre 7 e 10 mm de comprimento. As anteras medem 1 a 3 mm de comprimento, mais ou menos deiscentes, com algumas glândulas no conetivo; estiletos medindo 8 a 10 mm de comprimento e o ovário tri, tetra ou pentalocular com cinquenta a cem óvulos por lóculo. Os brotos são aveludados, às vezes glabros; a casca mais antiga é geralmente polida e muitas vezes escamosa e resistente. As folhas são coriáceas de cor marrom-amarelada ou marrom-avermelhada de formato elíptico, elíptico-oblongo ou obovado com 4 a 11,5 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura, normalmente aveludadas na parte inferior; com ápice obtuso, arredondado ou agudo; e base também arredondada ou aguda; os pecíolos medem de 4 a 12mm de espessura, canelados, geralmente pubescentes e raramente glabros. A nervura principal é plana na parte superior e proeminente na parte inferior. As nervuras laterais são em número de um a dez. O fruto é subgloboso, podendo ser também elipsoidal com 1 a 3 cm de comprimento, geralmente com polpa amarela e sementes na quantidade de vinte e duas a cem podendo chegar até duzentos e cinquenta sementes por fruto, as quais medem 3 a 4 mm de comprimento (LANDRUM, 1995; SILVA, 1999).

### 2.2.3. Cariótipo

As espécies do gênero *Psidium* apresentam variação no número de cromossomos ( $2n = 22, 44$  e  $88$ ) o que sugere a ocorrência de uma série poliploide no gênero e um número básico  $x = 11$  (FEDOROV, 1969; GOLBLATT, 1985).

O araçá (*P. guineense*) possui  $2n = 44 = 4x$ , com cromossomos ligeiramente assimétricos, sendo quatro pares de cromossomos metacêntricos, doze pares quase metacêntricos e seis pares de cromossomos submetacêntricos, um dos quais apresenta uma constrição secundária (CHAKRABORTI, 2010).

#### 2.2.4. Importância econômica e ecológica

São arbustos de médio porte, como mostrado na figura 1, atingindo de 2 a 6 metros de altura, com copa arredondada e cheia, que podem ser cultivadas em jardins residenciais e vasos grandes. Os ramos têm casca acastanhada à cinza que se desprende em placas finas (CORRÊA, 1984).



Fonte: Rafaela Araújo.

**Figura 1.** Arbusto de araçá (*P. guineense*) localizado na Ilha de Itamaracá.

Os araçazeiros se destacam pelas características de seus frutos, que tem sabor exótico, elevado teor de vitamina C e boa aceitação pelos consumidores (RASEIRA; RASEIRA, 1996)

Os frutos do araçá são consumidos ao natural ou são utilizados para preparo de doces (a popular “araçazada”), compotas, sucos, polpas

congeladas e geleias. A raiz contém substâncias com propriedades diuréticas e antidiarreicas, e a casca do caule do araçazeiro é usada em curtumes; as folhas e, sobretudo, os brotos tem propriedades adstringentes, sendo empregados para controle de diarreia. A madeira é apropriada para confecção de vigas, mourões, cercas, cabos de ferramentas e instrumentos agrícolas, móveis finos, lenha e carvão. A planta pode ainda ser utilizada para fins ornamentais (CORRÊA, 1978; DEMATTÊ, 1997; BRANDÃO et al., 2002).

Apesar dos vários tipos de aproveitamento que podem ser oferecidos pelo araçazeiro, eles ainda não possuem expressão econômica no contexto da fruticultura nacional, não existindo, inclusive, pomares comerciais (BEZERRA et al., 2006).

De acordo com Franzon (2004), nas regiões onde ocorrem o araçá, a geração de emprego e renda na agricultura familiar ainda é pouco representativa e, são poucas as comunidades rurais nestas áreas que fazem coleta dos frutos para consumo *in natura*, sendo raras aquelas que fazem beneficiamentos da polpa e comercialização dos seus produtos derivados.

Os araçás são encontrados como plantas pioneiras em áreas degradadas e como alternativa para superar os problemas causados por nematoides em pomares de goiabas (PEREIRA, 2003).

#### **2.2.5. Floração, frutificação e dispersores.**

Sob as condições climáticas da Zona da Mata de Pernambuco, cuja precipitação pluviométrica atinge em média 2.000 mm anuais e estão concentradas entre os meses de maio a agosto, ocorrem duas safras do araçazeiro (*P. guineense*): a primeira, de fevereiro a março e outra de agosto a setembro (LEDERMAN et al., 1997).

São plantas alógamas e a polinização geralmente é realizada por abelhas (LUGHADA; PROENÇA, 1996). As pétalas e (ou) estames são atrativos visuais aos polinizadores em geral, porém, os estames geralmente são estruturas mais notáveis da flor aberta, como mostrado na figura 2 (GRESSLER et al., 2006). Outro atrativo que também tem papel importante na atração de polinizadores é o odor, geralmente descrito como doce (LUGHADA; PROENÇA, 1996).

As sementes dos frutos dos araçazeiros são dispersas por mamíferos carnívoros (GRESSLER et al., 2006). Entre os mamíferos carnívoros dispersores de sementes de *Psidium* estão o cuati, duas espécies de cachorro-do-mato e o lobo guará.



Fonte: Rafaela Araújo.

**Figura 2.** Flor do araçá (*P. guineense*).

### **2.3 Estrutura e variação genética de populações naturais de plantas**

A estrutura genética de uma espécie pode ser definida como a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. Esta estrutura resulta da combinação entre mutação, migração, seleção e deriva genética, as quais definem a distribuição da variabilidade genética nas populações. Em populações naturais, a distribuição da variabilidade genética é influenciada pelo modo de reprodução, sistema de acasalamento, tamanho da população, distribuição geográfica e fluxo gênico (HAMRICK, 1982), além de ser estruturada no tempo e no espaço.

Alguns parâmetros, como o número de alelos por loco, a porcentagem de locos polimórficos, a heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg e o índice de fixação, são usados na caracterização da variabilidade genética intrapopulacional

(BOTREL; CARVALHO, 2004; PINTO; CARVALHO, 2004; VAN ROSSUM; PRENTICE, 2004).

A distribuição da variabilidade genética está associada à forma como os genótipos e alelos estão distribuídos no tempo e espaço, seja entre populações distintas geograficamente, ou dentro de um grupo local, ou mesmo em grupos de progênes (LOVELESS; HAMRICK, 1984).

## 2.4 Fluxo gênico

O termo “fluxo gênico” é usado para se referir aos mecanismos que resultam na movimentação de alelos de uma população para outra, ou seja, é o movimento de genes, seja a partir de movimento de gametas, propágulos, ou indivíduos que efetivamente trocam alelos (NEIGEL, 1997).

Segundo Futuyma (1992), existem diversos modelos de fluxo gênico que correspondem às diferenças na estrutura da população, dentre os quais estão:

- Modelo “continente-ilha”, no qual existe um movimento efetivo unidirecional de uma população grande, “continental”, para uma unidade menor, isolada;
- Modelo “ilha”, no qual a migração ocorre ao acaso entre o grupo de pequenas populações;
- Modelo “alpondras” (*stepping-stone*), no qual cada população recebe migrantes das populações vizinhas;
- Modelo “isolamento pela distância”, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre os vizinhos, em uma população contínua.

O fluxo de genes tanto dentro como entre populações está diretamente relacionado com a estrutura reprodutiva das plantas, estando praticamente impedido no caso de populações que se reproduzem assexuadamente e ocorrendo em diferentes modos e graus no caso de populações com reprodução sexuada (MARTINS, 1987). As plantas dispersam seus genes durante dois estágios de vida: a dispersão do pólen antes da fertilização e a dispersão da semente após fertilização e desenvolvimento do embrião (HAMRICK, 1982; SEOANE, 2007).

Segundo Hamrick e Loveless (1986), diferentes padrões na dispersão das sementes têm efeitos nos níveis de variação genética dentro das

populações e na distribuição da variação genética entre as populações. Já com relação à dispersão de pólen, espécies tipicamente alógamas apresentam variação genética maior dentro das populações e menor entre elas, pois a divergência entre populações é inversamente proporcional ao fluxo gênico. No caso de populações que se reproduzem por autofecundação, onde se tem limitada dispersão de sementes, ocorre baixa variação dentro das populações e alta entre elas (LOVELESS; HAMRICK, 1987).

A importância do fluxo gênico está em contrapor os efeitos da deriva, que causa a perda de alelos, caso a população permaneça isolada por várias gerações (SEOANE et al., 2000). O fluxo pode ser quantificado por métodos diretos ou indiretos, no modelo direto o fluxo é baseado na distância de transporte dos grãos de pólen e sementes, envolvem corantes como marcadores morfológicos e análise de paternidade, os quais possuem a limitação de só poderem ser aplicados em populações pequenas (ZUCCHI, 2002), enquanto que o indireto baseia-se na relação inversa entre divergência ( $F_{ST}$ ) entre populações e o número de migrantes por geração ( $Nm$ ).

### **2.5 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ).**

É o tamanho de uma população ideal em que a composição genética é influenciada por processos aleatórios, como deriva genética, da mesma maneira que uma população real de tamanho físico (WRIGHT, 1931).

Em populações naturais ocorre a sobreposição das gerações, existindo indivíduos que ainda não atingiram a idade reprodutiva e outros que já a ultrapassaram. Para a análise genética de uma população, os indivíduos destas duas categorias não contam para o tamanho efetivo (ROBINSON, 1998). Dessa forma, a medida de representatividade que se refere o tamanho genético de uma população reprodutiva e não ao número de indivíduos que a compõe, assim, diz respeito à representatividade genética de amostras, a fim de minimizar as eventuais perdas de alelos no processo de sua conservação (SEBBENN; SEOANE, 2005). Este é um parâmetro crucial para o julgamento do impacto da deriva sobre a estrutura genética de populações (VENCOVSKY, 1987).

O entendimento da relação entre o tamanho efetivo e o tamanho real de uma população de plantas é fundamental para um planejamento de

conservação porque uma grande diferença entre  $N$  e  $N_e$  pode iludir os pesquisadores quanto ao status de uma espécie. De forma geral, esta relação depende basicamente da variabilidade entre os indivíduos ao longo do tempo de seu sucesso reprodutivo, combinando tantas variáveis populacionais ecológicas quanto às genéticas (MORAES et al., 2002).

A diminuição do tamanho efetivo populacional é, portanto, um dos principais responsáveis pela perda de variabilidade em populações ameaçadas de extinção (VENCOVSKY, 1987).

Do ponto de vista da Genética de Populações, a erosão genética e as medidas de minimização de seus efeitos, podem ser enfocadas sob a ótica do tamanho efetivo populacional, visto que, esse parâmetro permite que o número mínimo viável de indivíduos em uma população para que haja a representatividade efetiva da variabilidade genética (VENCOVSKY, 1987).

O  $N_e$  é um parâmetro de grande importância para delimitar a área mínima viável para a conservação *in situ* de uma espécie (SEBBENN, 1997). Além disso, o conhecimento do  $N_e$  pode contemplar também os planos de conservação *ex situ*, pois, a coleta de sementes para coleções de germoplasma deve ser feita de tal maneira que garanta o máximo da representatividade genética (PÓVOA, 2002).

## **2.6. Isoenzimas no estudo de populações naturais de plantas**

### **2.6.1 A técnica**

As isoenzimas são definidas como diferentes formas moleculares de uma mesma enzima, que ocorrem num mesmo organismo, com afinidade por um mesmo substrato, sendo uma técnica bioquímica amplamente utilizada (ALFENAS, 1998).

Visando a preservação da atividade das enzimas, a amostra (tecido) é triturada, de preferência sobre gelo ou em nitrogênio líquido, na presença de solução tampão contendo antioxidantes, estabilizadores osmóticos e agentes que atuam sobre os fenóis. As enzimas são produtos gênicos, por isso, na coleta do material a ser analisado, cuidados especiais devem ser tomados, como local e condições de produção do material, escolha de um único tecido, mesmo estágio de desenvolvimento e livre de microrganismos (MARTINS et al., 2012).

São utilizados géis de amido ou poliacrilamida para a separação dos peptídeos com base na carga e no peso molecular e após a corrida eletroforética o gel é colocado na presença de substratos específicos e de cofatores, íons, etc., necessários a atividade da enzima, para que a revelação seja visualizada no gel sob a forma de bandas (MARTINS et al., 2012). O resultado da presença de mais de um gene, codificado para cada uma das enzimas, indica que são controladas geneticamente por um ou vários genes, situados num mesmo loco ou diferentes locos, respectivamente. A variação em certas isoenzimas pode ser importante na capacidade das plantas de sobreviverem em ambientes diversos. Assim, estresses que afetam o metabolismo da planta como nutrição, temperatura e infecção por patógenos influenciam a intensidade da atividade enzimática e podem refletir no surgimento de formas moleculares múltiplas, por ativação de genes (GOTTLIEB, 1982; BORÉM; CAIXETA, 2006).

Apesar das técnicas de isoenzimas detectarem apenas eventos mutacionais, que alteram a carga elétrica das proteínas em regiões codificadoras, e de um número limitado de genes que se expressam em enzimas dependentes do estágio de desenvolvimento da espécie, tais técnicas são consideradas de custo baixo e de ótimos resultados. Outra vantagem é que os polimorfismos enzimáticos estão mais próximos da expressão fenotípica final do que os polimorfismos de DNA, por ser um produto intermediário da expressão do gene (TORGGLER et al., 1995).

A expressão das isoenzimas é codominante, isto quer dizer que, um indivíduo diploide, ambos os alelos de um loco são expressos e visualizados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

### **2.6.2 Interpretação dos resultados**

Para interpretar os padrões de bandas resultantes da eletroforese isoenzimática é importante ter conhecimento prévio das subunidades que formam a enzima, por exemplo, as enzimas monoméricas são compostas apenas por um polipeptídeo, enquanto que as enzimas diméricas são formadas por dois polipeptídios, as triméricas por três, e as tetraméricas por quatro, dependendo da estrutura quaternária da enzima (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

Os indivíduos heterozigotos para uma enzima monomérica apresentam duas bandas referentes aos dois polipeptídios expressos pelos seus dois alelos no caso de indivíduos diploides. No caso dos indivíduos heterozigotos para uma enzima dimérica além das duas bandas correspondentes aos dois polipeptídios, apresentam uma terceira banda intermediária, produto da conjugação dos dois polipeptídios, da mesma forma ocorre com os indivíduos heterozigotos para enzimas tri e tetraméricas, apresentando duas e três bandas intermediárias (WENDEL; WEEDEN, 1989; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996). Para os homozigotos, a banda formada é sempre simples, pois o indivíduo apresenta apenas a produção de um tipo da enzima (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

A informação básica ao se visualizar os dados enzimáticos é de que diferenças na mobilidade de isoenzimas, em um campo elétrico, são resultantes das sequências de DNA que codificam essas enzimas. Em virtude das propriedades catalíticas das enzimas, as isoenzimas, especificamente, podem refletir o estado metabólico e diferenciado das células (SCANDALIOS, 1979).

### **2.6.3 Aplicação das isoenzimas em estudos de populações naturais de plantas**

Estudos com isoenzimas contribuíram efetivamente para o conhecimento da distribuição da variabilidade genética inter e intrapopulacional de espécies economicamente e ecologicamente importantes das florestas tropicais (PÓVOA, 2002; REIS, 1996; SEBBENN, 1997, 2001; SOUZA, 1997; VIEIRA, 2005). Esta técnica tem proporcionado dados úteis na abordagem de questões importantes em sistemática e evolução de plantas (CRAWFORD, 1989).

A fim de estudar as populações naturais de árvores brasileiras esta metodologia foi utilizada por TELLES et al. (2003) com araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.), Por Sebbenn et al. (2003) estudando genipapo (*Genipa americana* L.), por Melo Júnior et al. (2004) investigando o pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.), por Silva (2009) estudando cajá (*Spondias monbin* L.) e por Martins (2011) estudando mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).

## 2.6 Referências bibliográficas.

- ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e micro-organismos.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574 p.
- ANDRADE LIMA, D. de. Estudos fitogeográficos do estado de Pernambuco. **Arquivos do IPA**, Recife, n. 5, p. 305-340, 1960.
- ARAGÃO, W. M. et al. Recursos genéticos de fruteiras nativas e naturalizadas potenciais dos tabuleiros costeiro e da baixada litorânea nordestinos. In: VIEIRA NETO, R. D. **Frutíferas potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. p. 10-20.
- BEARDSELL, D. V. et al. Reproductive biology of Australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 41, n. 4-5, p. 511-526, 1993.
- BEZERRA, J. E. F.; SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.).** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 30 p. (Série Frutas Nativas, 1).
- BEZERRA, J. E. F. et al. Araçá. In: PEREIRA, A. V. et al. **Frutas nativas da região Centro-oeste do Brasil.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. cap. 3, p. 42-62.
- BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares.** Viçosa, MG: UFV, 2006. 374 p.
- BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. Variabilidade genética em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 621-627, 2004.
- BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do estado de Minas Gerais.** Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528 p.

CHAKRABORTI, S. et al. Chromosome number and Karyotype analyses of wild guava *P. guineense* Sw. **India Journal of Science and Technology**, Tripura, v. 3, n. 8, p. 925-927, 2010.

CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L. L. et al. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso; Fundação MT, 2001. p. 423-441.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v. 1. p. 141.

CORREA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1978. p. 120.

CRAWFORD, D. J. Enzyme electrophoresis and plant systematics. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. (Ed.). **Isozyme and plant biology**. London: Chapman and Hall, 1989. cap. 7, p. 146-164.

DEMATTÊ, M. E. R. P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 452, p. 143-179, 1997.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288 p.

DUCROQUET, J. P. H. J. et al. **Goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana*)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 66 p. (Série Frutas Nativa, 5).

FEDOROV, A. A. **Kromossomnye chislatsvetkovykh rastenii: chromosome numbers of flowering plants**. Leningrad: Academy of Sciences, 1969.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa; CENAGEM, 1996. 220 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3 ed. Brasília: Embrapa; Cenargen, 1998. 220 p.

FRANZOM, R. Frutíferas nativas do Sul do Brasil. In: ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1. **Documento 124...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. v. 1, p. 252-265.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 631p.

GOLDBLATT, E. P. Index the plant chromosome number 1975-1978. **Monographs in Systematic Botany**, St. Louis, v. 5, n. 1, p. 78-82, 1985.

GOTTLIEB, L. D. Conservation and duplications of isozymes in plants. **Science**, Washington, v. 216, p. 373-380, 1982.

GRESSLER, E.; PISO, M. A.; MORELLATO, P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 509-530, 2006.

GUERRA, M. P. et al. A diversidade dos recursos genéticos vegetais e a nova pesquisa agrícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 521-528, 1998.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Eschweilera ovata*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 67, p. 123-135, 2005.

HAMRICK, J. L. Plant population genetics and evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693, 1982.

HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, São Paulo, v. 18, p. 201-207, 1986.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 12, n. 32, p. 65-70, 1998.

LANDRUM, L. R. et al. Hybridization between *Psidium guajava* and *P. guineense* (Myrtaceae). **Economic Botany**, New York, v. 49, n. 2, p. 153-161, 1995.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic and identification keys. **Brittonia**, New York, v. 49, n. 4, p. 508-536, 1997.

LEDERMAN, I. E. et al. Selection of superior genotypes of Brazilian guava (*Psidium guineense* Swartz) in the Coastal Wood Forest Region of Northeast Brazil. **Acta Horticultural**, The Hague, n. 452, p. 95-100, 1997.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 15, p. 65-95, 1984

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Distribution de la variation genetic en species arbreas tropicales. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 35, n. 1, p. 165-176, 1987.

LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C. A survey of the productive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 83, n. 4, p. 480-503, 1996.

MANICA, I. **Frutas nativas, silvestres e exóticas 2**: técnicas de produção e mercado: feijão, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba. Porto Alegre: cinco continentes, 2002. 541 p.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas**. Myrtales, Santa Maria: Editora da UFSM, 1997. 304 p.

MARTINS, L. S. S. et al. Resistência de goiabeiras (*Psidium spp.*) a *Meloidogyne mayaguensis*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, jun. 2011.

MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. dos S.; LINS, S. R. de O. Contribuições de técnicas moleculares em doenças pós-colheita. In: OLIVEIRA, S. M. A.; LINS, S. R. de O; SANTOS, A. M. G. (Org.). **Avanços tecnológicos na patologia pós-colheita**. Recife: EDUFRPE, 2012. cap. 3, p. 199-220.

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 35, p. 71-78, 1987.

MATTOS, J. R. Fruteiras nativas do Sul do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1993, Cruz das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: EMBRAPA; CNPMF, 1993. p. 35-50.

MELO JÚNIOR, A. F. et al. Estrutura genética de populações naturais de pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, SP. n. 66, p. 56-65, 2004.

MORAES, P. L. R.; DERBYSHIRE, M. T. V. C. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 1-19, 2002.

NEIGEL, J. E. A comparision of alternative strategies for estimating gene flow forn genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, Palo Alto, v. 28, p. 105-128, 1997.

ODALIA-RÍMOLI, A. et al. Biodiversidade, biotecnologia e conservação genética em desenvolvimento local. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 1, n. 1, p. 21-30, 2000.

PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Melhoramento da goiabeira. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. d'A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e Mercado**. Viçosa: UFV, 2003. cap. 5, p. 53-78.

PINTO, S. I. C.; CARVALHO, D. Estrutura genética de populações de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Sprengel) por isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 597-605. 2004.

PIRES, L. L. et al. Mosca-das-frutas associadas aos frutos de araçá, *Psidium guineense* Sw. E *Psidium australe* Camb. nos Cerrados do Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2002, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Embrapa; SBF, 2002. 1 CD ROM.

PÓVOA, J. S. R. **Distribuição da variabilidade genética de *Cedrela fissilis* Vell., em fragmentos florestais, no sul de Minas Gerais, por meio de isoenzimas**. 2002. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RASEIRA, M. do C. B.; RASEIRA, A. **Contribuição ao estudo do Araçá (*Psidium cattleianum*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1996. 95 p.

REIS, M. S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitreiro (*Euterpe edulis*)**. 1996. 209 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

ROBINSON, I. P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ALFENAS, A. C. et al. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. Cap. 6, p. 329-380.

SANTOS, M. S. et al. Caracterização do suco de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, Paraná, v. 29, n. 5, p. 617-621, 2007.

SCANDALIOS, J. G. Isozymes development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v. 25, p. 225-258, 1979.

SEBBENN, A. M. **Distribuição da variação genética de populações de jequitibá-rosa [*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze] por caracteres quantitativos e isoenzimas**. 2001. 210 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEBBENN, A. M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar a partir de isoenzimas**. 1997. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SEBBENN, A. M. et al. Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa Americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, SP, n. 63, p. 13-22, 2003.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S. Estimativa de tamanho efetivo de endogamia por marcadores genéticos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2005.

SEOANE, C. E. S. et al. Efeitos da fragmentação floral na estrutura genética de populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Guarantã). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 57, p. 123-139, 2000.

SEOANE, C. E. S. **Efeitos da fragmentação florestal sobre a genética de populações de guarantã**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 1 CD-ROM.

SILVA, E. F. et al. Diversity and genetic structure in cajá tree (*Spondia mombin* L.) populations in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 117-181, 2009.

SILVA, M. F. F. da. **Caracterização e avaliação do banco ativo de germoplasma do araçazeiro (*Psidium guineense* Swartz)**. 1999. 56 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, 1985.

SOUZA, M. A. D. **Biologia Reprodutiva de onze espécies de Myrtaceae em floresta de terra firme na Amazônia Central**. 1997. 97f. Dissertação (Mestrado em Botânica.) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

TELLES, M. P. C. et al. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. – Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 186 p.

VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H. C. Structure of allozyme variation in *Nordic Silenenutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 81, n. 3, p. 357-371, 2004.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. **IPEF**, Piracicaba, SP, n. 35, p. 79-84, 1987.

VIEIRA NETO, R. D. **Fruteiras tropicais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas**. Aracajú: Embrapa, 2002. 216 p.

VIEIRA, F. A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG**. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia.) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VILELA-MORALES, E. A.; VALOIS, A. C. C. Recursos genéticos vegetais autóctones e seus usos no desenvolvimento sustentável. **Cadernos de Ciências e Tecnologia**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 11-42, 2000.

WENDEL, J. F.; WEEDEN, N. F. Visualization and interpretation of plant isoenzymes. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. **Isoenzymes in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, 1989. cap. 1. p. 1-20.

WILSON, P.G. et al. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matk phylogeny. **Plant Systematic and Evolution**, Austria, v. 251, n. 1, p. 3-19, 2005.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, Pittsburgh, v. 16, p. 97-159, 1931.

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores de RAPD E SSR**. 2002. 188 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

**CAPÍTULO II – DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE  
POPULAÇÕES DE ARAÇA (*Psidium guineense* Sw.) NO ESTADO DE  
PERNAMBUCO**

---

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS  
DE ARAÇÁ (*Psidium guineense* Sw.) NO ESTADO DE PERNAMBUCO,  
BRASIL<sup>1</sup>**

EDSON FERREIRA DA SILVA<sup>2\*</sup>, RAFAELA LIIMA DE ARAÚJO<sup>2</sup>, CRISTINA  
DOS SANTOS RIBEIRO MARTINS<sup>2</sup>, LUIZA SUELY SEMEN MARTINS<sup>2</sup>,  
ELIZABETH ANN VEASEY<sup>3</sup>

**RESUMO** - *Psidium guineense* Sw., conhecida popularmente como araçá, é uma fruteira pertencente à família *Myrtaceae* que tem ampla distribuição geográfica. Nos Estados do Nordeste Brasileiro ela ocorre principalmente na faixa litorânea e Zona da Mata. O fruto do araçazeiro tem sabor que lembra o da goiaba, ligeiramente mais ácido e de perfume mais acentuado, e sua exploração é feita de modo extrativista. Não há informações sobre a diversidade e estrutura genética de populações naturais de *P. guineense*, o que dificulta a conservação dos recursos genéticos e sua exploração econômica. Neste trabalho foram estudadas a diversidade e estrutura genética de quatro populações de araçá, tendo sido avaliados um total de 114 indivíduos por meio de 18 locos isoenzimáticos que revelaram 28 alelos. A porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ) e o número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) nas populações foram 0,5 e 1,5, respectivamente. A heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ), que corresponde à diversidade gênica, variou entre 0,22 e 0,23, valores altos, principalmente considerado-se que isoenzimas acessam a porção funcional do genoma. O índice médio de diferenciação ( $\hat{\theta}_p$ ) entre as populações foi de 0,015, portanto, as populações basicamente não diferem entre si. O índice de fixação ( $\hat{f}$ ) variou de -0,549 a -0,794 e por ter sido negativo, indica ausência de endogamia e excesso de heterozigosidade nas populações. O fluxo gênico ( $N_m$ ) estimado para os pares de populações variou de 3,23 a 20,77, valores que corroboram com a ausência de diferenciação observada entre as mesmas.

**Palavras chave:** Recurso genético. Isoenzima. Fruteira nativa. Fluxo gênico.

**DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF NATUARL POPULATINS OF  
ARAÇÁ (*Psidium guineense* Sw.) ON PERNABUCO STATE, BRAZIL**

**ABSTRAT** - *Psidium guineense* Sw, popularly known as araçá, is a fruit tree belongs to *Myrtaceae* family that there is wide geographic distribution. On the state of Brazilian

northeast it is occur along of littoral and Zona da Mata. Its' there are a flavor that look like guava but is more acid with strong smell and, it's explorations by the extractive activities. There is not information about diversity and genetic structure of natural population of *P. guineense*, that to becomes difficult the conservation of genetic resource and its economic exploration. The objective of this research was the evaluation of the genetic diversity and genetic structure of *P. guineense* from Pernambuco's Zona da Mata. It was evaluated a total of 114 individual by 18 isozyme loci that shoed 28 alleles. The percentage of polymorphic loci ( $\hat{P}$ ) and the average number of allele per loci ( $\hat{A}$ ) on populations was 0.5 and 1.5, respectively. The expected heterozygosity ( $\hat{H}_e$ ) that correspond the genetic diversity ranged from 0.22 to 0.23, high value, principally considering that isozyme marks inquires from functional genome. The differentiation index among population was  $\hat{\theta}_p=0,015$ , therefore, the populations basically there are no difference it other. The inbreeding values ( $\hat{f}$ ) ranged from -0.549 to -0.794 and were negative, indicating inbreeding absence and more than expected heterozygosis in all population. The estimated gene flow ranging from ( $N_m$ ) estimated for pair of population ranged from 3.23 to 20.77 values sufficiently for avoids the genetic differentiation among population and according with value genetic divergence in this study.

**Keywords:** Genetic resource. Isozyme. Native fruit. Gene flow

## INTRODUÇÃO

A espécie *P. guineense* Sw., popularmente conhecida como araçá, pertence à família das Mirtáceas, a qual engloba cerca de 100 gêneros e aproximadamente 3.000 espécies de árvores e arbustos que se distribuem por todos os continentes, exceto na Antártida, e é predominante nas regiões tropicais e subtropicais (PEREIRA; NACHTIGAL, 2003).

Essa espécie é originaria da América do Sul (BRANDÃO et al., 2002) e no Brasil ocorre naturalmente desde o Rio Grande do Sul até a Amazônia e principalmente nas áreas litorâneas (BEZERRA et al., 2006). No Nordeste Brasileiro, *P. guineense* ocorre em toda faixa litorânea e Zona da Mata, principalmente nas áreas dos tabuleiros costeiros (DEMATTE, 1997; BEZERRA et al., 2006) e também no semiárido baiano (QUEIROZ, 2011).

Quanto ao potencial de exploração econômica *P. guineense* se destaca pelas características de seus frutos, que têm sabor exótico, elevado teor de vitamina C e boa aceitação pelos consumidores (RASEIRA; RASEIRA, 1996). No entanto, essa espécie ainda não tem grande expressão econômica no contexto da fruticultura nacional e é explorada apenas de modo extrativista (BEZERRA et al., 2006). Apesar de não ter sido ainda domesticada, essa espécie tem grande importância, principalmente como recurso genético a ser explorado de forma direta no processo de pré-melhoramento de genótipos que produzam frutos de interesse econômico ou como fonte de genes a serem transferidos para a goiabeira (*P. guajava* L.), que é a espécie domesticada do gênero *Psidium*, a qual apresenta pouca restrição ao cruzamento com *P. guineense*. Além disso, genótipos de *P. guineense* resistentes a nematóides também têm se mostrado promissores como porta enxerto para goiabeira, constituindo uma excelente alternativa para evitar problemas com nematóides das galhas da goiabeira (CASTRO et al., 2012; MARTINS et al., 2013).

Praticamente inexitem recursos genéticos conservados *ex situ* de *P. guineense*, exceção se faz a poucas coleções ativas mantidas em instituições de pesquisa do país e coleções didáticas em algumas universidades e organizações estaduais de pesquisa agropecuária (BEZERRA, 2006; QUEIROZ, 2011). Além disso, atualmente não são disponíveis informações sobre a diversidade e estrutura genética de suas populações naturais. Entretanto, presume-se que assim como ocorre com outras espécies frutíferas nativas, esta espécie esteja sofrendo acentuada perda de alelos, em função da devastação dos ecossistemas em que a espécie ocorre. Informações geradas em estudos de diversidade e estrutura genética das populações naturais podem fornecer importantes parâmetros os quais poderão facilitar a definição de estratégias de conservação, principalmente as que garantem a continuidade do processo evolutivo das populações ao longo do tempo (RAO; HODGKIM, 2002).

Por serem codominantes e acessarem informações da porção funcional do genoma, os marcadores isoenzimáticos têm sido bastante utilizados em estudos de populações naturais. Aplicando-se esses marcadores, foram estudadas populações de diversas fruteiras tropicais, tais como: cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.) (TELLES et al., 2001), araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.) (TELLES et al., 2003), genipapo (*Genipa americana* L.) (SEBBENN et al., 2003), pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.) (MELO JÚNIOR et al., 2004), cajázeira (*Spondias mombin* L.) (SILVA et al.,

2011), mangabeira (*Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes) (MARTINS et al., 2012), além de outras espécies florestais de interesse madeireiro e/ou ecológico.

O objetivo desse trabalho foi estudar a diversidade e a estrutura genética de quatro populações de araçá (*P. guineense*) na região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco utilizando marcadores isoenzimáticos, visando disponibilizar informações para serem usadas em programas de conservação e de melhoramento genético do araçá.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Foram estudadas quatro populações naturais de *P. guineense* denominadas de Itamaracá, Arariba, Marieta e Palmares (Tabela 1), buscando atender quatro áreas ao longo da Zona da Mata de Pernambuco (Figura 1). A amostragem foi realizada de forma aleatória, buscando representar a densidade de plantas e o tamanho das populações. Dos indivíduos amostrados foram coletadas folhas jovens, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e em seguida armazenadas em isopor com gelo até serem levadas ao Laboratório de Genética do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram mantidas em freezer a -20°C até a extração das enzimas.

**Tabela 1.** Identificação das populações de araçá (*P. guineense* Sw.) coletadas no Estado de Pernambuco, seus respectivos municípios, denominação das populações, número de amostras coletadas (n) e as coordenadas geográficas (latitude e longitude) maior e menor.

Município	Denominação das populações	n	Coordenadas geográficas	
			Latitude menor e maior	Longitude menor e maior
Itamaracá	Itamaracá	28	07 <sup>o</sup> 44' 197'' a 07 <sup>o</sup> 44' 989''	034 <sup>o</sup> 51' 312'' a 034 <sup>o</sup> 51' 667''
Escada	Arariba	28	08 <sup>o</sup> 16' 017'' a 08 <sup>o</sup> 17' 968''	035 <sup>o</sup> 08' 721'' a 035 <sup>o</sup> 11' 196''
Moreno	Marieta	30	08 <sup>o</sup> 07' 113'' a 08 <sup>o</sup> 08' 965''	035 <sup>o</sup> 10' 986'' a 035 <sup>o</sup> 11' 171''
Palmares	Palmares	28	08 <sup>o</sup> 43' 266'' a 08 <sup>o</sup> 46' 179''	035 <sup>o</sup> 31' 013'' a 035 <sup>o</sup> 31' 985''



**Figura 1.** A) Mapa do Brasil evidenciando o Estado de Pernambuco; B) Estado de Pernambuco com a identificação dos locais de coleta de populações de *Psidium guineense* Sw.

Em cada população foram amostrados entre 28 e 30 indivíduos, no período de janeiro a abril de 2013, sendo que a distância mínima entre indivíduos amostrados foi de 50 metros. Visando facilitar o acesso às plantas, em caso de reamostragem ou coleta de material propagativo, cada indivíduo foi identificado com placa de alumínio presa por arame em seu caule com número correspondente e georreferenciado por meio de receptor Global Position System (GPS).

A população Itamaracá é formada por plantas que ocorrem em clareiras da vegetação remanescentes de Mata Atlântica e os indivíduos aparentam idades distintas. As outras três populações ocorrem em áreas anteriormente cultivadas com cana-de-açúcar, onde as condições do solo, em relação a resíduos de fertilizantes parecem estar favorecendo o desenvolvimento das plantas das referidas populações. As plantas aparentam ter idades semelhantes e segundo relatos de proprietários e moradores tais populações foram estabelecidas entre sete e 11 anos.

#### **Extração e revelação das enzimas**

A extração das enzimas foi realizada utilizando-se a solução tampão nº 1, descrita por Alfenas et al. (1998), acrescentando PVP 40 (Polyvinylpyrrolidone) durante a maceração das folhas. Os extratos gerados foram armazenados em freezer -20°C até a sua utilização para eletroforese a qual foi realizada em gel de amido horizontal a 13% (ALFENAS et al., 1998). Os sistemas gel/eletrodo utilizados foram: TCP (Tris Citrato Borato, pH 7,5) e LB (Lítio Borato, pH 8,5).

Para a análise das populações foram testados 18 sistemas isoenzimáticos (Esterase - EST, Xiquimato desidrogenase - SKDH, Catalase - CAT, Álcool desidrogenase - ADH, 6-Fosfogluconato desidrogenase - 6-PGDH, Leucina aminopeptidase - LAP,

Isocitrato desidrogenase - IDH, Malato desidrogenase - MDH, Fosfatase ácida - ACP, Peroxidase - PO, Glucose 6-fosfato desidrogenase - G6PDH, Fosfoglucoose isomerase - PGI, Fosfoglucomutase - PGM, Enzima málica - ME, Glutamato oxalacetato trasaminase - GOT, Polifenoloxidase - PPO, Supeóxido dismutase - SOD e Fosfatase alcalina - AKP), visando a utilização daqueles que apresentassem padrões de banda mais informativos.

### Análise de dados

A interpretação dos zimogramas permitiu a determinação das frequências alélicas e os índices de diversidade, tais como: porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ), estimada pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos, considerando-se como loco polimórfico aquele cuja frequência do alelo mais comum não ultrapasse 95%; número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ), obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos; heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), que foi obtida por  $\hat{H}_o = 1 - \sum p_{ii}$ , onde  $p_{ii}$  = frequência de genótipos homozigotos; heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ), obtida por  $\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$ , onde  $p_i$  = frequência alélica estimada do i-ésimo alelo; e índice de fixação ( $\hat{f}$ ), estimado por  $\hat{f} = 1 - (\hat{H}_o/\hat{H}_e)$ . Foi também estimado o tamanho efetivo ( $N_e$ ) conforme Vencovsky (1992), onde,  $N_e = n/1 + \hat{f}$ , sendo  $n$  o número de plantas amostradas e  $\hat{f}$  o coeficiente de endogamia intrapopulacional.

Foram estimados os parâmetros de estrutura genética populacional como a divergência genética entre populações ( $F_{ST}$ ) não viesada, de acordo com Nei (1978), identidade genética ( $GI$ ), e as estimativas de fluxo gênico entre as populações conforme Crow; Aoki (1984) a partir da equação:  $N_m = \left[ \left( \frac{1}{F_{ST}} \right) - 1 \right] / 4 \alpha$ , em que  $\alpha = [n/(n-1)]^2$ , sendo  $N_m$  o número de migrantes e  $n$  o número de populações. Foram também estimados os coeficientes de coancestralidade de Cockerham (1969) e, visando verificar se essas estimativas médias eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança com 95% de probabilidade, pelo método de reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 repetições por loci. Todas as análises foram obtidas com o auxílio do programa GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 18 sistemas isoenzimáticos testados, nove revelaram padrões de bandas em todos os indivíduos das quatro populações estudadas os quais foram considerados na análise das populações (Tabela 2). Os nove sistemas definiram 18 loci e 28 alelos. Os loci ACP1, EST1, GOT1, GOT2, PGI1, SKDH1, 6-PGDH1 e AKP1 revelaram apenas um alelo os quais se apresentaram fixados nas quatro populações estudadas. Para os demais loci (ACP2, LAP1, LAP2, EST2, PGI2, ASK2, 6PGDH2, AKP2 ADH1 e ADH2) foram revelados dois alelos com frequências variando de 0,017 a 0,982 (Tabela 2).

Alterações nas frequências alélicas entre populações podem ser indicativos de deriva genética ou decorrente de migração. Especificamente no caso das populações estudadas de *P. guineense*, tais alterações podem estar mais associadas à deriva genética, pois as populações são novas, formadas após interrupção do cultivo de cana-de-açúcar em áreas de topografia íngreme, no caso das populações Arariba, Marieta e Palmares. Já no caso da população Itamaracá, as clareiras são abertas e fechadas esporadicamente por conta da ação antrópica e havendo regeneração da vegetação por plantas secundárias e terciárias restringe a permanência de *P. guineense*, portanto, prevalecem plantas jovens. Segundo Botrel e Carvalho (2004), as análises das frequências alélicas são de grande importância por refletir os efeitos estocásticos mais adequadamente do que a maioria dos parâmetros utilizados em estudos de genética de população.

A porcentagem de loci polimórficos ( $\hat{P}$ ) foi de 0,5 para as quatro populações estudadas e o número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) foi de 1,5, valor obtido também para o número de alelos por loco nas quatro populações (Tabela 3). A regularidade desses parâmetros nas quatro populações pode estar associada às características dessa espécie a qual se comporta como pioneira na Zona da Mata de Pernambuco, apresentando facilidade ou aptidão para povoar áreas em que se interrompeu o cultivo de cana-de-açúcar. Como as populações são novas, com 7 a 11 anos, pode não ter havido tempo suficiente para atuação de fatores seletivos nas populações. O mencionado comportamento de *P. guineense* como planta pioneira foi relatado por Brandão et al. (2002). Além disso, deve-se considerar também que o principal modo de dispersão das sementes dessa espécie se dá por aves, o que normalmente abrange grandes deslocamentos e provavelmente são as mesmas que dispersam goiabeira, já que em todas as populações também ocorrem plantas de goiabeira.

**Tabela 2.** Frequência dos alelos observados em cada loco nas quatro populações estudadas de araçá (*P. guineense* Sw.)

Loco	Populações				
	Alelo	Itamaracá	Arariba	Marieta	Palmares
<i>Acp1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Acp2</i>	1	0,607	0,428	0,600	0,535
	2	0,392	0,571	0,400	0,464
<i>Lap1</i>	1	1,000	0,875	0,648	0,818
	2	0,000	0,125	0,351	0,181
<i>Lap2</i>	1	0,660	0,500	0,616	0,410
	2	0,339	0,500	0,383	0,589
<i>Est1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Est2</i>	1	0,464	0,303	0,150	0,500
	2	0,535	0,696	0,850	0,500
<i>Got1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Got2</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Pgi1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Pgi2</i>	1	0,500	0,410	0,766	0,607
	2	0,500	0,589	0,233	0,392
<i>Skdh1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Skdh2</i>	1	0,500	0,500	0,483	0,500
	2	0,500	0,500	0,516	0,500
<i>6Pgdh1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>6Pgdh2</i>	1	0,500	0,500	0,350	0,589
	2	0,500	0,500	0,650	0,410
<i>Akp1</i>	1	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Akp2</i>	1	0,410	0,464	0,350	0,392
	2	0,589	0,535	0,650	0,607
<i>Adh1</i>	1	0,982	1,000	1,000	1,000
	2	0,017	0,000	0,000	0,000
<i>Adh2</i>	1	0,410	0,500	0,500	0,456
	2	0,589	0,500	0,500	0,543

A heterozigosidade média observada ( $\bar{H}_o$ ) variou entre 0,34 e 0,40 e a heterozigosidade média esperada ( $\bar{H}_e$ ), que corresponde à diversidade gênica, variou de 0,22 a 0,23 (Tabela 3), tendo sido iguais nas populações Itamaracá e Marieta (0,22) e também iguais nas populações Araiba e Palmares (0,23). Portanto, foram observados mais heterozigotos nas populações do que se esperava pelo Equilíbrio de Hardy-

Weinberg. Esse nível de diversidade (22 a 23%) é considerado alto ou intermediário em estudos com isoenzimas, principalmente considerando que se trata de um marcador molecular que acessa a porção funcional do genoma.

**Tabela 3.** Parâmetros genéticos nas populações estudadas de aracá (*P. guineense* Sw.) nos 18 locos enzimáticos estudados

População	n	P	$\bar{A}$	$\hat{H}_0$	$\hat{H}_e$	$\hat{f}$	Ne	Ne/n
Itamaracá	28	0,50	1,50	0,39	0,22	-0,794	135,92	4,85
Arariba	28	0,50	1,50	0,40	0,23	-0,754	113,82	4,06
Marieta	30	0,50	1,50	0,34	0,22	-0,549	66,52	2,22
Palmares	28	0,50	1,50	0,39	0,23	-0,678	86,96	3,10
Média	28,5	0,50	1,50	0,38	0,22	-0,693	100,80	3,54

Número de indivíduos amostrados em cada população (n), porcentagem de locos polimórficos (P), número médio de alelos por locos ( $\bar{A}$ ), heterozigosidades observadas ( $\hat{H}_0$ ) e esperadas ( $\hat{H}_e$ ), índice de fixação  $\hat{f}$ , tamanho efetivo (Ne) e relação entre o tamanho efetivo e o tamanho real (Ne/n).

Em pesquisas realizadas com outras espécies silvestres utilizando isoenzimas foram verificados valores similares a esse. Kageyama et al. (2003) obtiveram valores de  $\hat{H}_e$  variando de 0,255 a 0,480 para cinco espécies florestais (*Trema micrantha*, *Cecropia pachystachya*, *Cariniana legalis*, *Maytenus aquifolia* e *Esenbeckia leiocarpa*) de diferentes estados sucessionais. Martins-Corder (2009) obtiveram valores variando de 0,203 a 0,276 para *Euterpe edulis* Martius, em três condições ambientais distintas. Martins et al. (2012) observaram valores entre 0,30 e 0,42 estudando *Hancornia speciosa* variedade *speciosa* no Nordeste do Brasil.

O índice de fixação ( $\hat{f}$ ), que corresponde à relação entre ( $\hat{H}_0$ ) e ( $\hat{H}_e$ ), variou entre -0,549 a -0,794 nas quatro populações estudadas (Tabela 3). Os valores negativos indicam elevadas heterozigosidades, corroborando com os valores de ( $\hat{H}_0$ ) e ( $\hat{H}_e$ ) e sugere que a reprodução seja predominante por alogamia. Altos níveis de diversidade genética possibilitam grande número de combinações genotípicas em espécies de reprodução sexuada, o que aumenta o potencial evolutivo em consequência da maior capacidade de adaptação a eventuais mudanças ambientais (SEBBENN et al., 2000). Quanto à uniformidade da diversidade observada nas quatro populações, também deve

estar relacionada ao fato de *P. guineense* ter comportamento de planta pioneira, característica que propicia a formação de populações com plantas de idade semelhante. Além disso, por ser uma espécie dispersa principalmente por pássaros, mesmo as distâncias entre as populações variando de 16 a 130,3 Km (Tabela 4), as sementes envolvidas na formação das populações, principalmente nas populações Arariba, Marieta e Palmares, podem ter origem comum.

Quando avaliada a diferenciação genética entre populações ( $F_{ST}$ ) e/ou a identidade genética ( $GI$ ) aos pares de populações (Tabela 4), observa-se que basicamente não há diferença entre as populações. As estimativas indiretas de fluxo gênico ( $Nm$ ) apresentaram valores variando entre 3,23 a 20,77 (Tabela 4), índices considerados altos e suficientes para evitar a diferenciação entre as populações, pois segundo Ellstrand (2003) valores superiores a 1,0 impedem que haja a diferenciação genética entre as populações. Esses dados indicam que uma população seja suficiente, caso se deseje realizar coleta visando preservação *ex situ* e para preservação *in situ* pode ser priorizada uma das populações, já que as quatro têm o mesmo potencial de representatividade genética.

As estimativas médias obtidas para os coeficientes de coancestralidade de Cockerham (1969) para as quatro populações (Tabela 5) mostram que houve ausência de endogamia para o conjunto das populações ( $\hat{F} = -0,691$ ) e excesso de heterozigose dentro de populações ( $\hat{f} = -0,617$ ), confirmando a tendência das populações à alogamia. Em espécies alógamas a ocorrência de endogamia causada por deriva genética, o que neste caso seria devido à fundação das populações a partir de um número reduzido de indivíduos, pode levar ao surgimento de alelos deletérios em homozigose, ocasionando depressão por endogamia e reduzir a adaptabilidade da espécie nos casos em que prevalece a interação gênica de sobredominância (FRANKHAM et al., 2006).

A divergência média entre as populações ( $\hat{\theta}_p$ ) foi baixíssima (1,5%) (Tabela 5), corroborando os dados obtidos para o parâmetro  $F_{ST}$ , o que parece ser uma característica específica de *P. guineense* devido ao modo de dispersão, ao sistema de reprodução por alogamia, e por ser uma espécie pioneira.

**Tabela 4.** Identidade genética ( $GI$ ), estimativa da divergência genética ( $F_{ST}$ ) não viesada calculadas segundo Nei (1978), distância geográfica e fluxo gênico ( $Nm$ ) para os pares de populações de araçá (*P. guineense* Sw.) estudadas na Zona da Mata de Pernambuco.

Combinações	$GI$	$F_{ST}$	Distancia geográfica (km)	$Nm$
Itamaracá x Arariba	0,997	0,003	72,7	20,77
Itamaracá x Marieta	0,981	0,019	56,1	3,23
Itamaracá x Palmares	0,997	0,003	130,3	20,77
Marieta x Arariba	0,985	0,015	16,6	4,10
Palmares x Arariba	0,997	0,003	57,6	20,77
Palmares x Marieta	0,985	0,015	74,2	4,10

**Tabela 5.** Estimativas do coeficiente de endogamia dentro das populações ( $\hat{f}$ ), coeficiente de endogamia total nas populações ( $\hat{F}$ ) e divergência genética entre populações ( $\hat{\theta}_p$ ) de quatro populações naturais de *P. guineense* Sw. para os 18 locos isoenzimáticos

Locos	$\hat{F}$	$\hat{f}$	$\hat{\theta}_p$
<i>Acp1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Acp2</i>	-0,610	-0,690	0,050
<i>Lap1</i>	-0,654	-0,720	0,040
<i>Lap2</i>	-0,622	-0,600	0,044
<i>Est1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Est2</i>	-0,630	-0,690	0,036
<i>Got1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Got2</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Pgi1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Pgi2</i>	-0,627	-0,691	0,038
<i>Skdh1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Skdh2</i>	-0,566	-0,650	0,050
<i>6Pgdh1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>6Pgdh2</i>	-0,619	-0,696	0,045
<i>Akp1</i>	-0,615	-0,690	0,044
<i>Akp2</i>	-0,621	-0,705	0,050
<i>Adh1</i>	-0,616	-0,691	0,044
<i>Adh2</i>	-0,580	-0,662	0,050
Média	-0,691	-0,617	0,015

A representatividade genética dos indivíduos avaliados por meio da estimativa do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), mostram que os valores estimados foram superiores ao número de indivíduos amostrados (Tabela 3), reafirmando que há ausência de endogamia nas populações. Segundo Moraes e Derbyshire (2002) esse parâmetro é fundamental no julgamento do impacto decorrente de deriva genética. A relação entre o tamanho efetivo e o tamanho real da população ( $N_e/n$ ) que permite estimar a tamanho populacional mínimo viável necessário para manutenção da integridade genética da população, encontra-se na Tabela 3. Segundo Raposo et al. (2007) essa relação é fundamental para o estabelecimento de estratégias de conservação.

## CONCLUSÕES

- As populações de araçá na Zona da Mata de Pernambuco não diferem entre si quanto à diversidade genética.
- A diversidade genética nas populações de araçá na Zona da Mata de Pernambuco é alta.
- Não há restrição ao fluxo gênico entre as populações de araçá na Zona da Mata de Pernambuco, condição que impede a diferenciação genética entre as mesmas.
- A ausência de endogamia nas populações sugere que predomina a reprodução por alogamia de *P. guineense* na Zona da Mata de Pernambuco.

## AGRADECIMENTOS

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574p.
- BEZERRA, J. E. F. et al. Araçá. In: VIEIRA, R. F. et al. (Org.). **Frutas nativas da região Centro-oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p. 42-62.
- BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. Variabilidade genética em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 621-627, 2004.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528 p.

CASTRO, J. M. C. et al. Reaction of *Psidium* accessions to *Meloidogyne enterolobii* Root-Knot nematode. **Acta Horticulturae**, v. 959, p. 51-59, 2012.

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

CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait; estimating the degree of population subdivision. **Proceeding of Natural Academy of Sciences USA**, New York, v.81, p.6073-6077, 1984.

DEMATTE, M. E. R. P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 452, p. 143-179, 1997.

ELLTSRAD, N.C. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, London, v.358, p.1163-1170, 2003.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. **Introduction to conservation genetics**, 6. ed. New York: Cambridge University Press, 2006. 617p.

KAGEYAMA, P.Y. et al. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estagio sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.64, p.93-107, 2003.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0. Disponível em: <<http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>>. Acesso em:

MARTINS, G.V. et al. Diversity and genetic structure in natural populations of *Hancornia speciosa* var. *speciosa* Gomes in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, p.1143-1153, 2012.

MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. S.; SOUZA, A. G.; RESENDE, L. V.; MALUF, W. R. Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, p. 477-484, 2013.

MARTINS-CORDER, M.P. et al. Análise da diversidade genética de populações de palmitreiro (*Euterpe edulis* Martius) através de marcadores isoenzimáticos. **Ceres**, Viçosa, v. 56, p. 204-206, 2009.

MELO JUNIOR, A. F. et al. Estrutura genética de populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.66, p.56-65, 2004.

MORAES, P.L.R.; DERBYSHIRE, M.T.V.C. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. **Biota Neotropica**, São Paulo, v.2, n.2, p.1-19, 2002.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Bethesda, v.89, n.3, p.583-590, 1978.

PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Melhoramento da goiabeira. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. d'A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e mercado**. Viçosa: UFV, 2003. p. 53-78.

QUEIROZ, M. A. Recursos genéticos vegetais da Caatinga para o desenvolvimento do Semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v.6, 1135-1150, 2011.

RAO, R. V.; HODGKIM, T. Genetic diversity and conservation and utilization of genetic resources. **Plant Cell**, Waterbuty, v. 68, p. 1-19, 2002.

RAPOSO, A. et al. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.1291-1298, 2007.

RASEIRA, M. do C. B.; RASEIRA, A. **Contribuição ao estudo do Araçá (*Psidium cattleyanum*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1996. 95 p.

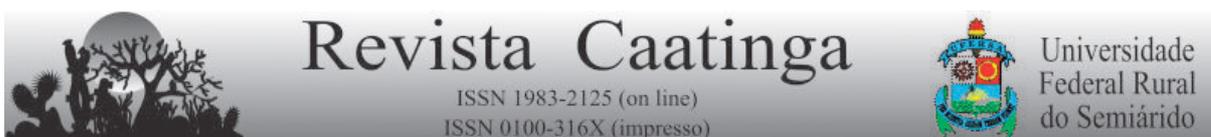
SEBBENN, A.M. et al. Sistema de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.58, p.25-40, 2000.

SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOVSKY, R. Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.63, p.13-22 2003.

TELLES, M.P.C. et al. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, p.123-129, 2003.

TELLES, M.P.C. et al. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, p.1387-1394, 2001.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 15, p. 53-60, 1992.



## **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

### **1. Política Editorial**

A Revista Caatinga, publicada pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPPG) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), apresenta periodicidade trimestral e destina-se à publicação de artigos científicos e notas científicas envolvendo as áreas de ciências agrárias e recursos naturais.

Os artigos podem ser enviados e/ou publicados em Português, Inglês ou Espanhol, e devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. Em caso de autores não nativos destas línguas, o artigo deverá ser editado por uma empresa prestadora deste serviço e o comprovante enviado para a sede da Revista Caatinga no ato da submissão através do campo “Transferir Documento Suplementares”.

Os trabalhos aprovados preliminarmente serão enviados a, pelo menos, dois revisores da área e publicados, somente, se aprovados pelos revisores e pelo corpo editorial. A publicação dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico, cabendo ao comitê editorial a decisão final do aceite. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. Artigo que apresentar mais de cinco autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Caatinga, salvo algumas condições especiais. Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

### **2. Custo de publicação**

Será de **R\$ 30,00 (trinta reais) por página editorada no formato final**. No ato da submissão é **requerido o depósito de R\$ 80,00 (oitenta reais) não reembolsáveis**, valor este que será deduzido no custo final do artigo editorado e aceito para publicação. A cópia digitalizada do comprovante de depósito ou transferência deve ser encaminhada ao e-mail da Revista Caatinga ([caatinga@ufersa.edu.br](mailto:caatinga@ufersa.edu.br)), informando o ID (quatro primeiros números), gerado no momento da submissão.

Caso o trabalho tenha impressão colorida deverá ser pago um **adicional de R\$ 80,00 (oitenta reais) por página**. Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

**FUNDAÇÃO G. DUQUE (CNPJ: 08.350.241/0001-72)**

**CAIXA ECONÔMICA FEDERAL: AGÊNCIA: 1013; CONTA CORRENTE: 229-0;**

**OPERAÇÃO: 003**

Os dados, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências bibliográficas, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). Contudo o Editor, com assistência dos Consultores "*ad hoc*", Comitê Editorial e do Conselho Científico, reservar-se-á o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Todos os artigos aprovados e publicados por esse periódico desde a sua fundação em 1976 estão disponíveis no site

<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>. A distribuição da forma impressa é de responsabilidade da Biblioteca Orlando Teixeira da Universidade Federal Rural do Semi-Árido sendo realizada por meio de permuta com bibliotecas brasileiras e do exterior.

Na submissão on line atentar para os seguintes itens:

1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais que deverá ser assinada pelos respectivos autores e enviada através do campo “Transferir Documentos Suplementares”;
2. Todos os autores devem estar, obrigatoriamente, cadastrados no sistema, onde serão informados seus endereços, instituições etc.
3. A primeira versão do artigo deve omitir os nomes dos autores com suas respectivas notas de rodapé, bem como a nota de rodapé do título;
4. Somente, na versão final o artigo deve conter o nome de todos os autores com identificação em nota de rodapé, inclusive a do título;
5. Identificação, por meio de asterisco, do autor correspondente com endereço completo.

### 3. Organização do Trabalho Científico

· **Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC ou RTF) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo de 20 páginas, A4, digitado em espaço 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho doze e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial ou consulte o último número da Revista Caatinga. As notas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras. As revisões são publicadas a convite da Revista. O manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.

· **Estrutura:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

· **Título:** deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no **máximo com 15 palavras**, não deve ter subtítulo e abreviações. Com a chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida.

Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

· **Autores(es):** nomes completos (sem abreviaturas), em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, país), endereço completo e e-mail do autor correspondente. Este deve ser indicado por um “\*”. Só serão aceitos, no máximo, cinco autores. Caso ultrapasse esse limite, os autores precisam comprovar que a pesquisa foi desenvolvida em regiões diferentes.

**Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.**

Para a inserção do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na **versão final do artigo** deve observar o padrão no último número da Revista Caatinga (<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

· **Resumo e Abstract:** no **mínimo 100** e no **máximo 250 palavras**.

· **Palavras-chave e Keywords:** em negrito, com a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

**Obs.** Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

· **Introdução:** no **máximo, 550 palavras**, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

· **Citações de autores no texto:** devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com dois autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com mais de três autores, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

· **Tabelas:** serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais.** As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm (consulte o modelo de artigo), acessando a página da Revista Caatinga (<http://periodico.caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

· **Figuras:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após à sua primeira citação.**

· **Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

· **Agradecimentos:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

· **Referências:** devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores, Justificar (Ctrl + J) - NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.**

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. **EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.**

**Exemplos citando diferentes documentos:**

**a) Artigos de Periódicos:**

**Até 3 (três) autores**

TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

**Acima de 3 (três) autores**

BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**Grau de parentesco**

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN**. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá**: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

\*Orientações utilizáveis para os mais variados formatos de documentos.

O nome do **local (cidade) de publicação** deve ser indicado tal como figura no documento.

COSTA, J. **Marcas do passado**. Curitiba: UEL, 1995. 530 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil**. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

No caso dos **homônimos de cidades**, acrescenta-se o nome do estado, do país etc.

Viçosa, AL; Viçosa, MG; Viçosa, RJ; Viçosa, RN

**Exemplo:**

BERGER, P. G. et al. Peletização de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com carbonato de cálcio, rizóbio e molibdênio. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 42, n. 243, p. 562-574, 1995.

Quando houver **mais de um local** para uma só editora, indica-se o primeiro ou o mais destacado.

SWOKOWSKI, E. W.; FLORES, V. R. L. F.; MORENO, M. Q. **Cálculo de geometria analítica**. Tradução de Alfredo Alves de Faria. 2. ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1994. 2 v. **Nota – Na obra**: São Paulo – Rio de Janeiro – Lisboa – Buenos Aires – Guatemala – México – New York – Santiago