

HERANÇA E DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO EM LOCOS DE ISOENZIMAS DE *Trema micrantha**

Luciano Arruda RIBAS**
Alexandre Magno SEBBENN***

RESUMO

Nove sistemas enzimáticos (ACP, DIA, EST, GDH, GOT, G6PDH, IDH, MDH e SKDH) codificando doze locos polimórficos (*Acp-1*, *Acp-2*, *Acp-3*, *Dia-1*, *Est-1*, *Gdh-2*, *Got-1*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-3* e *Skdh-1*) foram investigados em *Trema micrantha*. A herança mendeliana de progênies de árvores heterozigotas foi confirmada para todos os locos, pelo teste de ajuste dos padrões de segregação observados em relação à razão de segregação esperada 1:1. O desequilíbrio de ligação foi examinado para 55 pares de locos. Foram detectados desequilíbrios de ligação significativos em cinco pares de locos: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-2:Got-1* e *Gdh-2:Got-1*.

Palavras-chave: segregação; trema; espécies arbóreas tropicais.

ABSTRACT

Nine enzymes systems (ACP, DIA, EST, GDH, GOT, G6PDH, IDH, MDH and SKDH) coding for twelve polymorphic loci (*Acp-1*, *Acp-2*, *Acp-3*, *Dia-1*, *Est-1*, *Gdh-2*, *Got-1*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-3* and *Skdh-1*) were investigated in *Trema micrantha*. Mendelian inheritance was confirmed for all loci by testing the fit of band-pattern segregation in progeny from heterozygous trees to expected 1:1 ratio. Linkage disequilibrium was examined for 55 pair of allozymes loci. Five pairs of loci appear to be in linkage disequilibrium: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-2:Got-1* and *Gdh-2:Got-1*.

Key words: segregation; trema; tropical tree species.

1 INTRODUÇÃO

Trema micrantha (L.) B. é uma espécie arbórea folhosa de ocorrência ampla no continente americano, desde 30°N (Estados Unidos) a 30°S (Brasil). Essa espécie ocupa vários ambientes, exceto os mais úmidos. É a primeira espécie a se estabelecer em áreas abandonadas, continuando a existir em todos os estágios de sucessão secundária, exceto na floresta madura (Lorenzi, 1992). Suas flores são hermafroditas crípticas por existirem indivíduos variando de monóicos a dióicos (Torres, 1996). A polinização ocorre principalmente pelo vento, embora suas flores possam ser visitadas por pequenos insetos (Bawa *et al.*, 1985). A dispersão das sementes ocorre por zoocoria, principalmente por aves (Carvalho, 1994). *T. micrantha* tem diversos usos possíveis como na fabricação de papel e celulose, artesanato, produção de resina, uso medicinal, etc. A espécie tem sido muito utilizada para recuperação ambiental (Carvalho, 1994).

A utilização adequada de uma espécie em programas de melhoramento, conservação genética ou qualquer outro uso que implique na manipulação de populações, requer o prévio conhecimento de seu sistema de reprodução, variabilidade e estrutura genética. Tais conhecimentos podem ser obtidos através do uso de marcadores genéticos bioquímicos como isoenzimas. Contudo, para que as isoenzimas possam ser usadas como marcadores genéticos é necessário conhecer a sua herança (Furnier *et al.*, 1986; Gillet & Hattemer, 1989; Thorsén *et al.*, 1997; Lewandowski, 2000), bem como o equilíbrio de ligação entre locos.

O objetivo deste trabalho foi investigar a herança e o desequilíbrio de ligação em doze locos isoenzimáticos detectados em populações de *T. micrantha*. Foram usadas estruturas de progênies de polinização aberta de árvores heterozigotas para o estudo da herança e desequilíbrio de ligação.

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

(**) ESALQ/USP, Departamento de Ciências Florestais, Av. Pádua Dias, 15, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

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

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Sementes de polinização aberta foram coletadas em 24 árvores de duas populações naturais de *T. micrantha*, localizadas em dois fragmentos do Estado de São Paulo: Estação Ecológica de Caetetus (Latitude 22°22'S, Longitude 49°40'W, altitude variando de 500 m a 600 m) e Reserva Florestal de Santa Genebra (Latitude 22°49'S, Longitude 47°06'W, altitude variando de 580 m a 610 m). As sementes foram germinadas em viveiro e de cada árvore foram analisadas, via eletroforese de isoenzimas, tecidos foliares de dez plântulas. O genótipo das árvores maternas foi determinado da composição genotípica de suas progênes, usando o método de máxima verossimilhança de Brown & Allard (1970), implementado no programa MLTR de Ritland (1998).

2.2 Eletroforese em Gel de Amido

As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de plântulas empregando-se, aproximadamente, 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP 40), 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-60) e 200 microlitros da solução de extração número 1 de Alfenas (1998, p. 96). A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel a 13% de concentração, com 2/3 de amido de milho (penetrose 30) e 1/3 de amido de batata (Sigma). As “corridas” foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C. O tampão de cuba e gel utilizado foi o número 25 (DL-histidina, pH 8,0) citado em Alfenas (1998, p. 123). A lista das isoenzimas investigadas encontra-se na TABELA 1.

TABELA 1 – Sistemas enzimáticos estudados em *T. micrantha*.

Sistemas enzimáticos (Abreviações) Número E.C.	Locos detectados	Número de alelos detectados
Fosfatase ácida (ACP) E.C. 3.1.3.2	A	2
	B	2
	C	3
Diaforase (DIA) E.C. 1.8.1.4	A	2
α -Esterase (α -EST) E.C. 3.1.1.1	A	2
Glucose desidrogenase (GDH) E.C. 1.1.1.47	A	?
	B	2
Glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) E.C. 2.6.1.1	A	3
Glucose 6 fosfato desidrogenase (G6PDH) E.C. 1.1.1.49	A	2
Isocitrato desidrogenase (IDH) E.C. 1.1.1.42	A	1
Malato desidrogenase (MDH) E.C. 1.1.1.37	A	2
	B	2
	C	3
Xiquimato desidrogenase (SKDH) E.C. 1.1.1.25	A	?
	B	3

2.3 Análise de Segregação

Não foram realizados cruzamentos controlados para o estudo da herança isoenzimática em *T. micrantha*. Por isso, adotou-se o método descrito por Gillet & Hattermer (1989) que compara o genótipo da árvore materna com a segregação de suas progênes de polinização aberta. As seguintes condições devem ser satisfeitas: a) toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe, e

b) em casos de uma árvore mãe heterozigota (A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i , A_j ; ii) o número de progênes heterozigotas A_iA_j (N_{ij}) deve ser igual à soma das progênes homozigotas A_iA_i (N_{ii}) e A_jA_j (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$, e iii) o número de progênes heterozigotas A_iA_k (N_{ik}) deve ser igual ao número de progênes heterozigotas A_jA_k (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$.

Os fenótipos observados em cada progênie de árvores heterozigotas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. A hipótese de segregação individual de cada progênie foi aceita ou descartada com base em um teste de qui-quadrado (χ^2) padrão, com correção de Yates, com um grau de liberdade. Em seguida, todos os testes de qui-quadrado individuais foram somados, e um teste de qui-quadrado total para a segregação 1:1 foi obtido ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$). Simultaneamente, os fenótipos observados de progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno foram somados e um teste de qui-quadrado agrupado foi obtido ($\chi^2_{1:1Agrupado}$). A hipótese nula desse teste é a de igual proporção dos tipos de gametas na progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. A seguir, testou-se a hipótese de heterogeneidade de segregação entre progênies, usando-se um teste de qui-quadrado de heterogeneidade ($\sum \chi^2_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste de qui-quadrado agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), do teste qui-quadrado total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$). Esses testes de qui-quadrado são aditivos de forma que $\sum \chi^2_{Hipótese1:1} = \sum \chi^2_{Heterogeneidade} + \chi^2_{1:1Agrupado}$, com n , $n-1$ e 1 grau de liberdade, respectivamente (Mather, 1963). Os locos foram designados com letras e números e os alelos com letras (a a c), em ordem decrescente de migração do anodo para o catodo.

2.4 Análise de Desequilíbrio de Ligação

O teste de desequilíbrio de ligação foi realizado com base na medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows (Δ_{ij}) (Weir, 1979). Essa medida é apropriada para situações onde existem indícios de que a união de gametas não ocorreu de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta (Weir & Cockerham, 1979). A hipótese nula de desequilíbrio de ligação ($\Delta_{ij} = 0$) foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2) descrito em Weir (1979). Essas estimativas foram obtidas com auxílio do programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Padrões das Isoenzimas

Todos os treze locos revelados nos nove sistemas isoenzimáticos eram polimórficos, segregando de dois a três alelos cada. Contudo, não foram detectadas árvores maternas heterozigotas na amostra para o loco *Mdh-2*, de forma que não foi possível o estudo de seu padrão de segregação. As descrições dos padrões de herança, segregação e desequilíbrio de ligação dos locos são apresentadas a seguir.

Fosfatase ácida (ACP)

O sistema ACP apresentou três zonas de atividades enzimáticas. As duas zonas de migração mais rápidas, denominadas locos *Acp-1* e *Acp-2*, segregaram dois alelos cada e a zona mais lenta, denominada *Acp-3*, segregou três alelos (FIGURA 1). A avaliação do fenótipo de árvores heterozigotas revelou que estes locos são controlados por enzimas de expressão monomérica. Três zonas de atividade enzimática nessa enzima foram também detectadas em outras espécies arbóreas folhosa, como *Cedrus atlantica* Manetti (Fallour *et al.*, 2001) e *Cecropia pachystachya* Trec. (Ribas *et al.*, 2004).

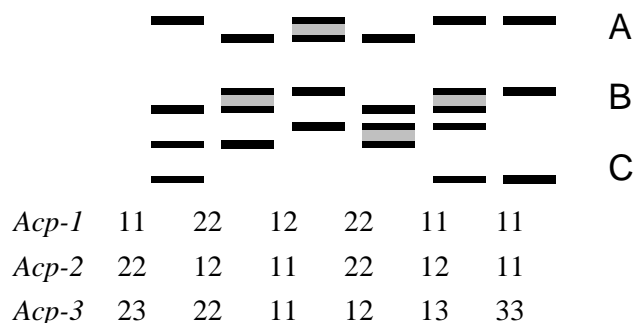
Diaforase (DIA)

O sistema DIA apresentou, claramente, duas zonas de atividade enzimática (FIGURA 1), denominadas locos *Dia-1* e *Dia-2*. Contudo, a zona de migração mais rápida tinha revelação inconstante e, por isso, foi descartada da análise genética. A zona mais lenta foi interpretada como um loco polimórfico segregando três alelos. A observação dos fenótipos de árvores heterozigotas indicou que essa enzima é de expressão monomérica. Em duas outras espécies arbóreas folhosas, *Liriodendron tulipifera* L. (Parks *et al.*, 1990) e *Eschweilera ovata* (Cambess) Miers (Gusson *et al.*, 2004), foram observadas três zonas de atividade nessa enzima.

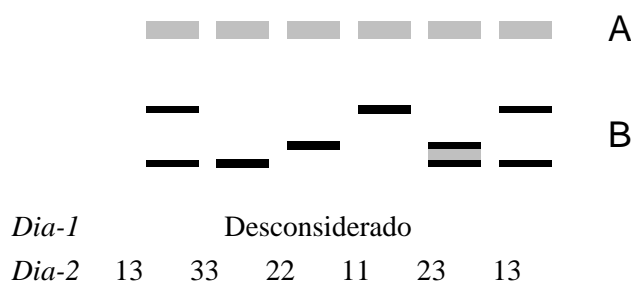
Alfa-Esterase (EST)

O sistema EST apresentou uma zona plausível de interpretação (*Est-1*), interpretada como um loco polimórfico, de expressão monomérica, segregando dois alelos (FIGURA 1). Em *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Larix decidua* Mill (Lewandowski & Mejnartowicz, 1990) foram detectadas até três zonas de atividade nessa enzima.

Fosfatase Ácida (ACP)



Diaforase (DIA)



Esterase (EST)



Glutamato Desidrogenase (GDH)

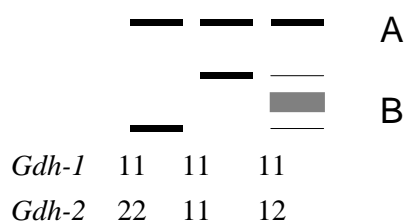


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. micrantha* nos sistemas ACP, DIA, EST e GDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

Glucose desidrogenase (GDH)

O sistema GDH apresentou duas zonas de atividades (FIGURA 1). A zona mais rápida de migração não apresentou variação e foi interpretada como um loco (*Gdh-1*) monomórfico. A zona de migração mais lenta (*Gdh-2*) apresentou polimorfismo e foi interpretada como um loco dimérico, segregando dois alelos (*a* e *b*).

Glutamato oxaloacetato transaminase (GOT)

O sistema GOT apresentou uma zona de atividade enzimática segregando três alelos (FIGURA 2). O fenótipo de indivíduos heterozigotos apresentava três bandas nos géis, indicando tratar-se de enzima dimétrica.

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*.

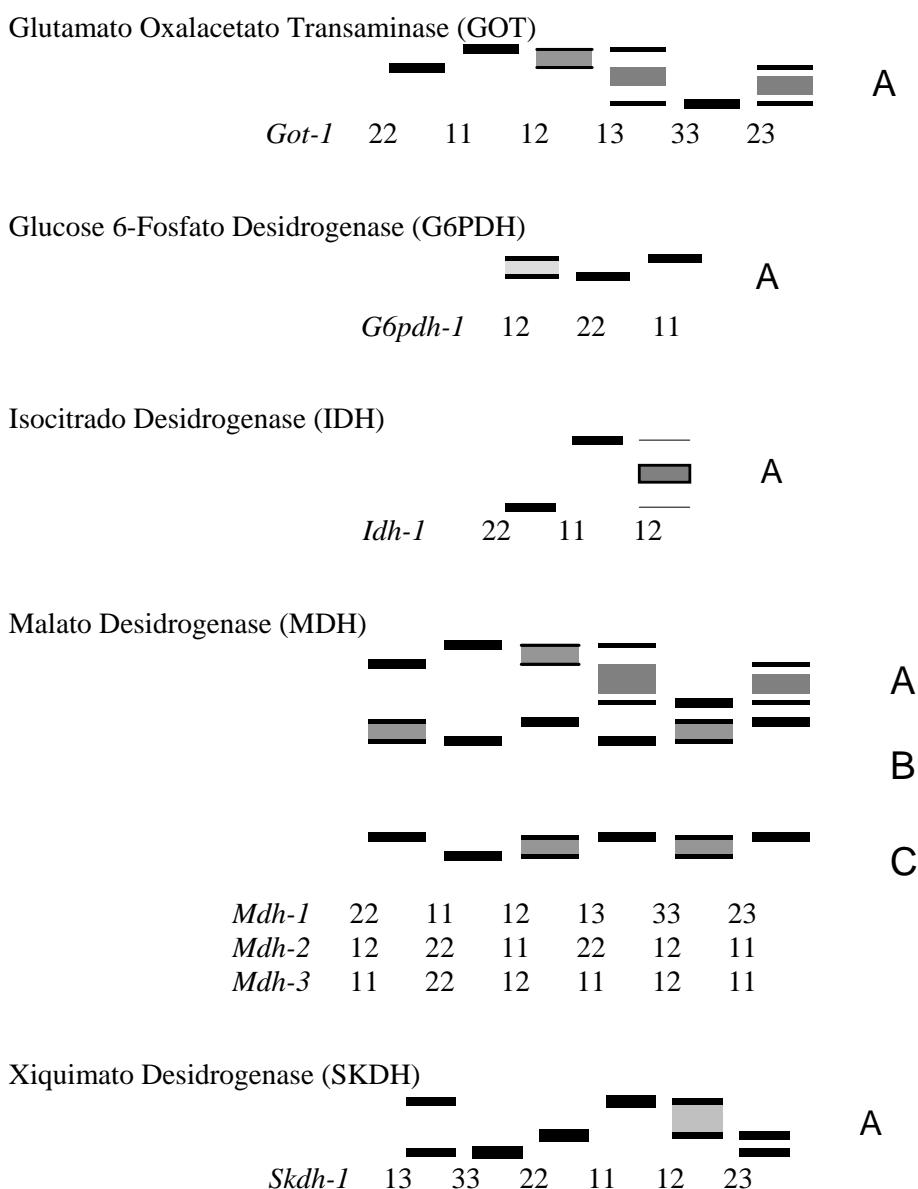


FIGURA 2 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. micrantha* nos sistemas GOT, G6PDH, IDH, MDH e SKDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

Glucose 6 Fosfato Desidrogenase (G6PDH)

O sistema G6PDH apresentou uma zona de atividade enzimática nas condições de eletroforese utilizadas (FIGURA 2). Essa zona foi interpretada como um loco (*G6pdh-1*) polimórfico, monomérico, segregando dois alelos. Um simples loco controlando essa enzima também tem sido relatado em outros estudos realizados com espécies arbóreas como *Pinus leucodermis* Ant. (Morgante *et al.*, 1993), *Pinus massoniana* Lamb. (Huang *et al.*, 1994) e *E. ovata* (Gusson *et al.*, 2004).

Isocitrato Desidrogenase (IDH)

A enzima IDH apresentou uma zona de atividade interpretada como um loco (*Idh-1*) segregando dois alelos (FIGURA 2). A observação de fenótipos de indivíduos heterozigotos indica que esse loco é dimérico. Uma zona de atividade também foi observada em *Pinus taeda* L. (Adams & Joly, 1980), *P. menziesii* var. *menziesii* (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Cedrus atlantica* Stand (Fallour *et al.*, 2001).

Malato Desidrogenase (MDH)

A enzima MDH apresentou três zonas de atividade. Todas as zonas eram polimórficas e tipicamente de locos diméricos, com indivíduos heterozigotos apresentando padrão com três bandas (FIGURA 2). A zona de migração A (*Mdh-1*) segregou três alelos e as zonas B e C (*Mdh-2* e *Mdh-3*) segregaram dois alelos cada. Três zonas de atividade na enzima MDH foram igualmente observadas em diversas outras espécies arbóreas (King & Dancik, 1983; Ying & Morgenstern, 1990; Huang *et al.*, 1994; Thorsén *et al.*, 1997; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002; Zhelev *et al.*, 2002).

Xiquimato Desidrogenase (SKDH)

O sistema SKDH apresentou uma zona (*Skdh-1*) de atividade nos géis (FIGURA 2). Essa zona foi interpretada como um loco polimórfico, composto por uma enzima de expressão monomérica, segregando três alelos. Expressão monomérica no sistema SKDH também foi observada em *Araucaria angustifolia* (Mart.) O. Ktze. (Sousa *et al.*, 2002) e dois locos têm sido observados em diversos outros estudos da herança isoenzimática em espécies arbóreas (Geburek & Wang, 1990; Potenko, 2001; Sousa *et al.*, 2002).

3.2 Padrões de Segregação

Não foram detectados fortes indícios de desvios da razão de segregação esperada 1:1 nos locos isoenzimáticos estudados em *T. micrantha* (TABELA 2). Dos doze locos avaliados, seis (*Acp-3*, *Dia-2*, *Gdh-2*, *Idh-1*, *Mdh-3* e *Skdh-2*) não apresentaram qualquer desvio significativo da segregação esperada 1:1. O loco *Acp-1* apresentou desvio significativo no padrão de segregação para os testes de segregação total ($\chi^2_{Hipótese1:1}$) e de heterogeneidade ($\chi^2_{Heterogeneidade}$) em progênes de sete árvores, mas ausência de desvios quando duas árvores, com desvios significativos de segregação 1:1, foram excluídas da análise. Portanto, não se rejeita a hipótese de que esse loco segrega na proporção 1:1. Os locos *Acp-2* e *G6pdh-1* apresentaram desvios significativos de segregação na análise agrupada ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), devido ao excesso de heterozigotos,

mesmo quando árvores mostrando desvios significativos de segregação foram excluídas da análise. As distorções de segregação por excesso de heterozigotos (31:25) podem ter sido causadas por seleção natural a favor de heterozigotos. O loco *Est-1* apresentou desvio significativo da razão de segregação 1:1 para a hipótese total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$) e agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), mas ajuste ao modelo quando as árvores mostrando desvios foram excluídas da análise. O loco *Got-1* apresentou desvios significativos da razão de segregação 1:1 para a hipótese total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$) e agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$) na análise de três árvores heterozigotas do tipo A_2A_3 , mas ausência de desvio quando duas árvores mostrando desvios de segregação foram excluídas, e para quatro árvores heterozigotas do tipo A_1A_3 , de forma que se aceita a hipótese de segregação 1:1. O loco *Mdh-1* apresentou desvios significativos de segregação na análise agrupada ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), mas ausência de desvios quando árvores heterozigotas, mostrando desvios significativos, foram excluídas da análise. Em termos gerais, confirma-se a herança mendeliana simples para todos os doze locos isoenzimáticos avaliados em *T. micrantha*.

3.3 Desequilíbrio de Ligação

Indícios de desequilíbrio de ligação foram observados nas progênes de *T. micrantha* (TABELA 3). Das 55 possíveis combinações de pares de locos, foram detectados valores significativos de desequilíbrio de ligação entre cinco pares, envolvendo oito locos: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-1:Got-1* e *Gdh-2:Got-1*. Nos demais pares de locos não foram detectados indícios de desequilíbrio de ligação e podem ser usados, sem restrição, no estudo do sistema de reprodução, estrutura e diversidade genética de populações de *T. micrantha*. A combinação dos locos *Dia-1:Mdh-1* apresentou o maior valor do desequilíbrio de ligação, 0,040, embora este valor ainda seja baixo. A exclusão dos locos *Acp-1* e *Got-1* quebram a associação entre quatro pares de locos e a exclusão do loco *Dia-1* ou *Mdh-1* quebra o desequilíbrio entre o último par de locos em associação, de forma que os demais podem ser usados em estudos que requeiram o equilíbrio de ligação.

TABELA 2 – Testes de qui-quadrado (χ^2) para hipótese de segregação regular (1:1) de marcadores isoenzimáticos em *T. micrantha*.

Loco	Genótipo materno	Caso	Número de árvores (n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$N_{ik} : N_{jk}$	$\sum \chi^2$ Hipótese 1:1 GL = n	$\sum \chi^2$ Heterogeneidade GL = n-1	χ^2 1:1 Agrupado GL = 1	Árvores com desvios de segregação
<i>Acp-1</i>	A_1A_2	a)	7	31:25	–	14,91*	14,27*	0,64	2
		b)	5	30:21	–	10,64	9,05	1,59	
<i>Acp-2</i>	A_1A_2	a)	15	77:46	–	18,85	11,03	7,81**	2
		b)	13	68:38	–	11,60	2,62	8,98**	
<i>Acp-3</i>	A_1A_2	a)	3	11:14	–	5,78	5,42	0,36	
		a)	14	71:54	6:3	12,80 ¹	9,49 ²	3,31 ³	
<i>Dia-2</i>	A_1A_2	a)	6	31:29	–	5,43	5,36	0,07	
<i>Est-1</i>	A_1A_2	a)	11	41:67	–	20,31*	14,05	6,26*	2
<i>Gdh-2</i>	A_1A_2	b)	9	39:60	–	7,31	4,78	2,53	
		a)	2	8:11	–	1,88	1,40	0,47	
<i>Got-1</i>	A_1A_3	a)	4	6:11	6:6	12,07 ¹	10,60 ²	1,47 ³	
		a)	3	11:9	7:0	14,96* ¹	7,69 ²	7,34* ³	2
<i>G6pdh-1</i>	A_1A_2	b)	1	4:6	0:0	–	–	0,90	
		a)	12	73:41	–	16,97	7,98	8,89**	1
<i>Idh-1</i>	A_1A_2	b)	11	63:41	–	8,87	4,21	4,65*	
		a)	8	39:41	–	8,63	8,58	0,05	
<i>Mdh-1</i>	A_1A_2	a)	5	33:17	–	6,97	1,83	5,12*	1
		b)	3	27:16	–	3,65	0,84	2,81	
<i>Mdh-3</i>	A_1A_2	a)	3	16:14	–	3,93	3,36	0,57	
		a)	10	40:49	–	8,72	7,81	0,91	

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

N_{ik} e N_{jk} são os números observados de genótipos heterozigotos do tipo ik e jk , respectivamente.

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

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

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

(1) $GL = 2n$.

(2) $GL = 2(n-1)$.

(3) $GL = 2$.

TABELA 3 – Valores da medida composta de desequilíbrio gamético de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$), resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) e probabilidade associada (P) para pares de locos isoenzimáticos que apresentaram desvios significativos da hipótese de desequilíbrio de ligação em populações de *T. micrantha*.

Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	P
<i>Acp-1:Acp-3</i>	-0,023	7,17**	0,007
<i>Acp-1:Idh-1</i>	0,025	5,62*	0,018
<i>Dia-1:Mdh-1</i>	0,040	5,18*	0,023
<i>Dia-2:Got-1</i>	-0,025	5,68*	0,017
<i>Gdh-2:Got-1</i>	0,010	7,60**	0,006

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

4 CONCLUSÕES

A herança mendeliana simples foi confirmada para todos os doze locos avaliados em *T. micrantha*.

Os pares de locos *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-1:Got-1* e *Gdh-1:Got-1*, aparentemente, não segregam de forma independente e um loco de cada par deve ser excluído para análises genéticas que requeiram locos em equilíbrio de ligação.

5 AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Assistente de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes pela revisão gramatical do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

BAWA, K. S.; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 72, p. 33-345, 1985.

BROWN, A. H. D.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphisms. **Genetics**, Washington, D.C., v. 66, p. 133-145, 1970.

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

EL-KASSABY, Y. A.; YEH, F. C.; SZIKLAI, O. Inheritance of allozyme variants in Coastal Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 24, p. 325-335, 1982.

FALLOUR, D.; FADY, B.; LEFÈVRE, F. Evidence of variation in segregation patterns within a *Cedrus* population. **The J. of Heredity**, Cary, v. 92, p. 260-266, 2001.

FURNIER, G. R. *et al.* Inheritance and linkage of allozymes in seed tissues of whithbark pine. **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 28, p. 601-604, 1986.

GEBUREK, T.; WANG, Q. Inheritance of isozyme variants and their linkage relationships in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* Hook.). **Euphytica**, Dordrecht, v. 49, p. 193-201, 1990.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e equilíbrio gamético em locos isoenzimáticos de *Eschweilera ovata*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, 2004. (Submetido).

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*.

HUANG, Q. Q. *et al.* Genetic control of isozyme variation in Masson Pine, *Pinus massoniana* Lamb. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 43, p. 285-292, 1994.

KING, J. N.; DANKIK, B. P. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 25, p. 430-336, 1983.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 25-37, 2001.

LEWANDOWSKI, A. Inheritance and linkage of some allozymes in *Pinus armandii* Franch. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 79-82, 2000.

_____.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance of allozymes in *Larix decidua* Mill. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 39, p. 184-188, 1990.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 302 p.

MATHER, K. **The measurement of linkage in heredity**. New York: John Wiley & Sons, 1963. 149 p.

MORGANTE, M.; VENDRAMIN, G. G.; GIANNINI, R. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Pinus leucodermis* Ant. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 42, p. 231-236, 1993.

PARKS, C. R. *et al.* Genetic control of isozyme variation in the genus *Liriodendron* L. (Magnoliaceae). **Journal of Heredity**, Cary, 81, p. 317-323, 1990.

POTENKO, V. Inheritance of allozymes and genetic variation in natural populations of Japanese Yew in Petrov Island, Russia. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 307-313, 2001.

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e desequilíbrio gamético em sete locos isoenzimáticos de *Cecropia pachystachya*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, 2004. (Submetido).

RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR**. Version 1.1. British Columbia: University of British Columbia. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 18 abr. 1998.

SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 191-196, 2002.

THORSÉN, J. *et al.* Inheritance and linkage of isozyme loci in the Basket Willow (*Salix viminalis* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 144-150, 1997.

TORRES, R. B. **Biologia da reprodução de *Trema micrantha* (L.) Blume (Ulmaceae)**. 1996. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Lawrence, v. 35, p. 235-354, 1979.

_____.; COCKERHAM, C. C. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity**, Lund, v. 43, p. 105-111, 1979.

YEH, F. C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis. Edmonton: University of Alberta, 1999. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2004.

YING, L.; MORGENSTERN, E. K. Inheritance and linkage relationships of some isozymes of *Larix laricina* in New Brunswick, Canada. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 39, p. 245-251, 1990.

ZHELEV, P.; GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Inheritance and linkage of allozymes in a Balkan endemic, *Pinus peuce* Griseb. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 93, p. 60-62, 2002.