

# HERANÇA E DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO EM SETE LOCOS ISOENZIMÁTICOS DE *Cecropia pachystachya*\*

Luciano Arruda RIBAS\*\*  
Alexandre Magno SEBBENN\*\*\*

## RESUMO

Seis sistemas enzimáticos (ACP, G6PDH, IDH, PGI, PGM e SKDH), codificando sete locos polimórficos (*Acp-3*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Pgi-2*, *Pgm-1*, *Pgm-2* e *Skdh-1*), foram investigados para a herança e desequilíbrio de ligação em *Cecropia pachystachya* Trec. A herança mendeliana foi confirmada para todos os locos avaliados. Desvios significativos da razão de segregação esperada 1:1 foram detectados apenas em uma progênie de árvore heterozigótica. O desequilíbrio de ligação foi examinado para 21 pares de locos isoenzimáticos, não sendo detectados desequilíbrios entre nenhum deles e, assim, estes podem ser utilizados em subseqüentes estudos do sistema de reprodução, diversidade e estrutura genética de *C. pachystachya*.

Palavras-chave: herança; *Cecropia pachystachya*; espécies arbóreas tropicais.

## 1 INTRODUÇÃO

*Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae) é uma importante espécie para reflorestamentos ambientais, por suas características de hábito pioneiro e rápido crescimento. A espécie é dióica, polinizada pelo vento, produz grande quantidade de sementes dispersas por pássaros e morcegos. *C. pachystachya* tem distribuição ampla, indo desde o Estado do Ceará a Santa Catarina. Sua ocorrência é rara no interior da mata primária densa, mas é comum em matas secundárias e capoeiras novas (Lorenzi, 1992).

Em virtude do interesse crescente pela espécie para reflorestamentos ambientais, faz-se necessário o conhecimento detalhado do seu sistema de reprodução, diversidade e estrutura genética. Tais informações podem ser obtidas por meio de marcadores genéticos, como as isoenzimas. Contudo, para que marcadores isoenzimáticos possam ser usados como marcadores genéticos, é necessário o conhecimento prévio de sua herança (Gillet & Hattemer, 1989; Liu & Furnier, 1993; Pastorino & Gallo, 1998; Lewandowsky, 2000). Adicionalmente, em estudos populacionais, na maioria das vezes,

## ABSTRACT

Six isozyme systems (ACP, G6PDH, IDH, PGI, PGM and SKDH) codifying for seven polymorphic loci (*Acp-2*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Pgi-2*, *Pgm-1*, *Pgm-2* and *Skdh-1*) were investigated for inheritance and gametic disequilibrium in *Cecropia pachystachya* Trec. Mendelian inheritance was confirmed for all available loci. Significant segregation deviations from expected ratio 1:1 were detected only in one family from heterozygous tree. Linkage disequilibrium was examined for 21 pairs of allozyme loci. No linkage disequilibrium was detected in the pairs of loci studied. These loci can be used in subsequent mating system, genetic diversity and structure studies of *C. pachystachya*.

Key words: inheritance; *Cecropia pachystachya*; tropical tree species.

são estimadas médias entre locos ou é necessária a utilização de locos com segregação independente (sistema de reprodução, análise de paternidade), de forma que os locos devem ser primeiramente submetidos a um estudo de desequilíbrio de ligação. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi examinar a herança e o desequilíbrio de ligação em sete locos isoenzimáticos detectados em populações de *C. pachystachya*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostragem das Progênies

Sementes de polinização aberta foram coletadas em 23 árvores de duas populações naturais de *C. pachystachya*, localizadas em fragmentos do Estado de São Paulo: Estação Ecológica dos Caetetus (Latitude 22°22'S, Longitude 49°40'W) e Reserva Florestal de Santa Genebra (Latitude 22°49'S, Longitude 47°06'W), ambas administradas pelo Instituto Florestal.

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

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

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

De cada árvore foram analisados, via eletroforese de isoenzimas, tecidos foliares de dez plântulas. O genótipo das árvores maternas foi determinado da composição genotípica de suas progênes, usando-se 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 de *C. pachystachya* 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-360) 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), combinado com 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). As enzimas reveladas foram a fosfatase ácida (ACP; E.C. 3.1.3.2), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; E.C. 1.1.1.49), isocitrato desidrogenase (IDH; E.C. 1.1.1.42), fosfoglucose isomerase (PGI; E.C. 5.3.1.9), fosfoglucomutase (PGM; E.C. 5.4.2.2) e xiquimato desidrogenase (SKDH; E.C. 1.1.1.25). A forma de revelação dessas isoenzimas foi a mesma descrita em Alfenas (1998).

## 2.3 Análise de Segregação

O estudo da herança de *C. pachystachya* foi realizado pelo método descrito por Gillet & Hattemer (1989), que compara o genótipo da árvore materna com a segregação de suas progênes de polinização aberta. As pressuposições do método são: a) toda progênie de uma árvore materna  $A_iA_i$  deve possuir o alelo  $A_i$  da árvore mãe; b) em casos de uma árvore mãe heterozigótica (ex.  $A_iA_j$ ,  $i \neq j$ ): (i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna,  $A_i$  ou  $A_j$ ; (ii) o número esperado de progênes heterozigóticas  $A_iA_j$  ( $N_{ij}$ ) é igual à soma das progênes homozigóticas  $A_iA_i$  ( $N_{ii}$ ) e  $A_jA_j$  ( $N_{jj}$ ),  $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$ , e (iii) o número esperado de progênes heterozigóticas  $A_iA_k$  ( $N_{ik}$ ) é igual ao número de progênes heterozigóticas  $A_jA_k$  ( $N_{jk}$ ),  $N_{ik} = N_{jk}$ , com  $k \neq i, j$ .

A análise genética foi realizada com 10 plantas de cada uma das 23 progênes de polinização aberta avaliadas em *C. pachystachya*. Os fenótipos observados em cada progênie de árvores maternas heterozigóticas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. A hipótese foi rejeitada ou aceita com base em um teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) padrão, corrigido para pequenas amostras (correção de Yates). Em seguida, os valores de qui-quadrado individuais foram somados e um valor de qui-quadrado total para a segregação 1:1 foi obtido ( $\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$ ). Simultaneamente, os fenótipos observados de progênes de árvores heterozigóticas 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 nas progênes produzidas por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. Posteriormente, testou-se a hipótese de heterogeneidade de segregação entre progênes, 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 de 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  $I$  graus de liberdade, respectivamente (Mather, 1963). Os locos foram designados com letras e números, e os alelos com letras, em ordem decrescente de migração do ânodo para o cátodo.

## 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,  $\Delta_{ij}$  (Weir, 1979), usando o programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999). A medida de desequilíbrio de ligação de Burrows é a mais indicada em situações em que a união de gametas pode não ter ocorrido de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta (Weir & Cockerham, 1979). A hipótese de segregação independente foi testada com o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) descrito em Weir (1979).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Padrões Isoenzimáticos

Os seis sistemas isoenzimáticos avaliados em *C. pachystachya* apresentaram, pelo menos, uma zona de atividade com variação. Os padrões de herança desses sistemas foram:

##### *Fosfatase ácida (ACP)*

A enzima ACP apresentou três zonas de atividades (*Acp-1*, *Acp-2* e *Acp-3*) (FIGURA 1). A zona de migração mais rápida (*Acp-1*) não apresentou padrão de revelação que permitisse a correta interpretação, sendo descartada da interpretação genética. A segunda (*Acp-2*) e a terceira zonas (*Acp-3*) apresentaram padrões que possibilitaram a interpretação genética. A zona denominada *Acp-2* apresentou variação e foi interpretada como um loco monomérico apresentando dois alelos. A terceira zona, *Acp-3*, não apresentou variação e foi interpretada como um loco monomórfico. Em *Cedrus atlantica* Manetti (Fallour *et al.*, 2001) também foram detectadas três zonas de atividade na enzima ACP, embora em outras espécies como, por exemplo, *Salix viminalis* L. (Thorsén *et al.*, 1997) apenas uma zona de atividade tenha sido observada.

##### *Glucose 6 Fosfato Desidrogenase (G6PDH)*

A enzima G6PDH apresentou uma zona de atividade (*G6pdh-1*), interpretada como um loco polimórfico, apresentando três alelos (FIGURA 1). Um simples loco controlando essa enzima também tem sido relatado em *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch (Ying & Morgenstern, 1990), *Larix decidua* Mill. (Lewandowski & Mejnartowicz, 1990), *Pinus leucodermis* Ant. (Morgante *et al.*, 1993) e *Pinus massoniana* Lamb. (Huang *et al.*, 1994). Observando os zimogramas nos géis de indivíduos heterozigóticos, verificou-se que o fenótipo isoenzimático continha duas bandas, típico de enzimas monoméricas.

##### *Isocitrato Desidrogenase (IDH)*

Apenas uma simples zona de atividade enzimática foi detectada nessa enzima IDH. Essa zona foi interpretada como um loco de expressão dimérica, apresentando três alelos (FIGURA 1).

Na mesma enzima, uma zona de atividade foi reportada em *Pinus taeda* L. (Adams & Joly, 1980), *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Cedrus atlantica* Menetti (Fallour *et al.*, 2001).

##### *Fosfogluose Isomerase (PGI)*

O sistema PGI apresentou duas zonas de atividades, ambas com polimorfismo e denominadas locos *Pgi-1* e *Pgi-2* (FIGURA 1). Contudo, a revelação da zona de migração mais rápida (*Pgi-1*) não apresentou padrão suficiente que permitisse sua correta interpretação. A segunda zona foi interpretada como um loco polimórfico (*Pgi-2*) apresentando três alelos. A observação de fenótipos de indivíduos heterozigóticos detectou três bandas, o que é típico de enzima dimérica. Duas zonas de atividade nesse sistema têm sido detectadas em outras espécies arbóreas (Lewandowski *et al.*, 1992; Pastorino & Gallo, 2001; Sousa *et al.*, 2002).

##### *Fosfoglucomutase (PGM)*

O sistema PGM apresentou duas zonas de atividade enzimática (*Pgm-1* e *Pgm-2*), ambas polimórficas e apresentando dois alelos em cada loco (FIGURA 2). Observando os zimogramas de árvores heterozigóticas verifica-se a presença de três bandas, indicando tratar-se de locos diméricos. Duas zonas de atividade também foram observadas em *P. taeda* (Adams & Joly, 1980), *P. menziesii* var. *menziesii* (El-Kassaby *et al.*, 1982) e em *Acer pseudoplatanus* L. (Konnert *et al.*, 2001).

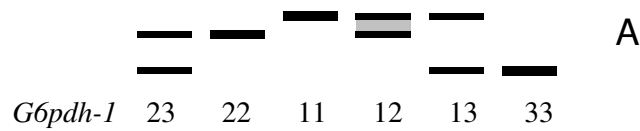
##### *Xiquimato Desidrogenase (SKDH)*

O sistema SKDH apresentou uma zona de atividade nos géis (*Skdh-1*). Essa foi interpretada como um loco polimórfico, composto por uma enzima de expressão monomérica e apresentando dois alelos (FIGURA 2). Expressão monomérica no sistema SKDH também foi observada em *Populus tremuloides* Michx. (Liu & Furnier, 1993), *Cunninghamia konishii* Hay (Wang & Lin, 1998) e *Araucaria angustifolia* (Mart.) O. Ktze. (Sousa *et al.*, 2002). Em *P. tremuloides* (Liu & Furnier, 1993) foi igualmente detectada uma zona de atividade no sistema SKDH, embora em outras espécies arbóreas tenham sido relatados dois locos (Wang & Lin, 1998; Sousa *et al.*, 2002).

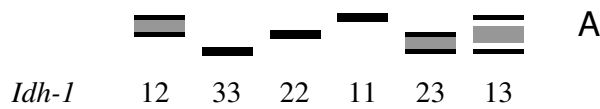
Fosfatase Ácida (ACP)



Glucose 6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH)



Isocitrato Desidrogenase (IDH)



Fosfoglucoase Isomerase (PGI)

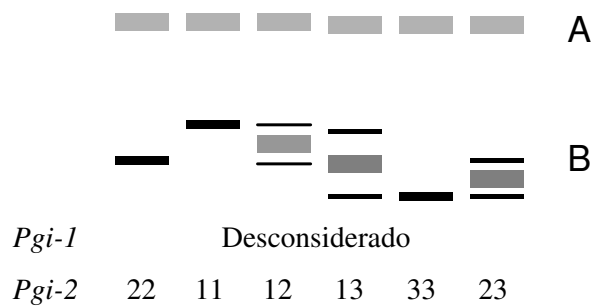
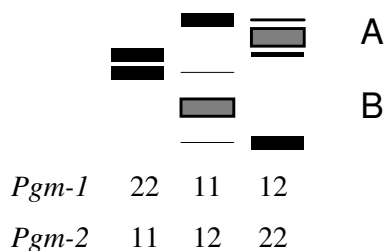


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *C. pachystachya* nos sistemas ACP, G6PDH, IDH e PGI, juntamente com seus respectivos genótipos.

## Fosfoglucomutase (PGM)



## Xiquimato Desidrogenase (SKDH)

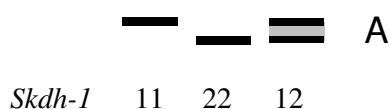


FIGURA 2 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *C. pachystachya* nos sistemas PGM e SKDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

### 3.2 Padrões de Segregação

Os valores do teste de qui-quadrado para a segregação esperada total 1:1 ( $\chi^2_{Hipótese1:1}$ ), de heterogeneidade entre progênies ( $\chi^2_{Heterogeneidade}$ ) e agrupado ( $\chi^2_{1:1Agrupado}$ ), em *C. pachystachya* (TABELA 1), evidenciaram indícios de desvios de segregação mendeliana em apenas um loco. O loco *Pgm-2* apresentou desvios significativos da razão esperada de segregação total 1:1 ( $\sum \chi^2_{Hipótese1:1} = 16,74$ ,  $P < 0,05$ ) e de heterogeneidade ( $\chi^2_{Heterogeneidade} = 14,07$ ,  $P < 0,05$ ). O teste de heterogeneidade indica que as progênies de mesmo genótipo materno heterozigótico estão segregando de forma diferente. Os desvios nos testes de segregação total e de heterogeneidade foram causados pelo desvio de segregação detectado em uma árvore heterozigótica  $A_1A_2$  ( $\chi^2 = 9,80$ ,  $P < 0,01$ ), onde se observou que os descendentes eram todos homozigotos para os dois alternativos alelos ( $A_1$  e  $A_2$ ) e nenhum heterozigoto foi observado. Os desvios de segregação observados na descendência da referida árvore podem ter sido causados por erro de amostragem, devido ao pequeno tamanho amostral usado para o teste (10 progênies), seleção entre a meiose e a fertilização ou forte ligação entre os alelos isoenzimáticos e genes deletérios.

O ideal é que os testes de segregação sejam baseados em grandes amostras (> 20 plantas por progênie), a fim de reduzir a chance de se detectar desvios de segregação devido à variação amostral aleatória. Por isso, os presentes resultados devem ser vistos com cautela, e novos testes, baseados em grande número de descendentes por árvore materna heterozigota, são desejados para confirmar os presentes resultados. A seleção entre a fase de meiose e a fertilização e a ligação entre os alelos isoenzimáticos e genes deletérios poderiam causar desvios de segregação pelo favorecimento (ou desfavorecimento) de certos alelos (seleção) ou pela exclusão de certos genótipos (ligação). Mas no presente caso, tais hipóteses são pouco prováveis de explicarem o desvio observado, visto que um dos alelos materno deveria estar em baixa frequência, o que não aconteceu, ambos alelos maternos apresentaram frequência igual (0,5). Uma outra explicação seria a presença de forte endogamia, que no caso de *C. pachystachya* poderia ser atribuída ao cruzamento entre parentes, considerando tratar-se de espécie dióica. O cruzamento entre parentes leva ao aumento da homozigose, o que explicaria a detecção somente de progênies homozigóticas. Contudo, quando a referida árvore foi excluída do conjunto de dados, os testes de segregação esperada total 1:1 e de heterogeneidade ajustaram-se à hipótese de segregação mendeliana 1:1. Assim, não se rejeita a hipótese de que esse também esteja segregando na proporção 1:1.

TABELA 1 – Teste para hipótese de segregação regular ( $\chi^2$ ) de marcadores isoenzimáticos em *C. pachystachya*.

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 $GL = n-1$	$\chi^2$ 1:1 Agrupado $GL = 1$	Árvores com desvio de segregação
<i>Acp-2</i>	$A_1A_2$	a	6	30:27	–	0,40	0,24	0,16	
<i>G6pdh-1</i>	$A_1A_3$	a	2	8:9	2:0	7,00 <sup>G1</sup>	4,78 <sup>G2</sup>	2,22 <sup>G3</sup>	
	$A_2A_3$	a	5	25:17	1:4	8,56 <sup>G1</sup>	5,26 <sup>G2</sup>	1,80 <sup>G3</sup>	
<i>Idh-1</i>	$A_1A_2$	a	8	33:29	–	13,51	13,51	0,00	
	$A_2A_3$	a	2	10:8	–	0,40	0,18	0,22	
<i>Pgi-2</i>	$A_2A_3$	a	8	41:42	–	5,37	5,36	0,01	
<i>Pgm-1</i>	$A_1A_2$	a	4	17:22	–	3,80	3,16	0,64	
<i>Pgm-2</i>	$A_1A_2$	a	6	21:33	–	16,74*	14,07*	2,67	1
	$A_1A_2$	b	5	21:23	–	6,94	6,84	0,09	
<i>Skdh-1</i>	$A_1A_2$	a	1	2:6	–	–	–	0,14	

$N_{ij}$  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 heterozigóticos do tipo  $ik$  e  $jk$ , respectivamente.

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

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

(\*)  $P < 0,05$ .

G1:  $GL = 2n$ ; G2:  $GL = 2(n-1)$ ; G3:  $GL = 2$ .

Em suma, com base nos resultados dos três testes de qui-quadrado, não foram detectados indícios fortes de desvios de segregação mendeliana em nenhum dos sete locos avaliados e, portanto, estes podem ser utilizados em estudos do sistema de reprodução, análise de paternidade e diversidade e estrutura genética de populações de *C. pachystachya*.

### 3.3 Desequilíbrio de Ligação

A estimativa da medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows ( $\hat{\Delta}_{ij}$ ) revelou valores baixos entre todas as possíveis combinações de pares de locos (máximo -0,039) e o

teste de qui-quadrado não detectou associações significativas em nenhum dos casos (TABELA 2). Isto indica que os alelos dos diferentes locos estão segregando independentemente, e os locos podem ser usados conjuntamente em estudos que requeiram locos em equilíbrio gamético (estudos do sistema de reprodução e análise de paternidade). A ausência de desequilíbrio de ligação em *C. pachystachya* pode, provavelmente, ser explicada pelo fato de tratar-se de espécie dióica. A reprodução obrigatória por cruzamentos favorece a recombinação entre locos, assim, não são esperadas fortes associações entre locos.

TABELA 2 – Valores da medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows ( $\hat{\Delta}_{ij}$ ), resultados do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e probabilidade associada ( $P$ ) para pares de locos isoenzimáticos em *C. pachystachya*.

Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	$\chi^2$	$P$	Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	$\chi^2$	$P$
<i>Acp2:G6pdh-1</i>	0,010	0,77	0,380	<i>Idh-1:Pgi-2</i>	-0,013	0,73	0,394
<i>Acp2:Idh-1</i>	0,011	0,76	0,384	<i>Idh-1:Pgm-1</i>	0,023	1,10	0,294
<i>Acp2:Pgi-2</i>	-0,008	0,74	0,461	<i>Idh-1:Pgm-2</i>	0,011	0,23	0,632
<i>Acp2:Pgm-1</i>	0,023	1,72	0,190	<i>Idh-1:Skdh-2</i>	-0,003	0,49	0,482
<i>Acp2:Pgm-2</i>	0,004	0,07	0,792	<i>Pgi-2:Pgm-1</i>	0,032	1,47	0,225
<i>Acp2:Skdh-2</i>	0,000	0,00	0,380	<i>Pgi-2:Pgm-2</i>	-0,010	1,05	0,305
<i>G6pdh-1:Idh-1</i>	-0,039	2,78	0,096	<i>Pgi-2:Skdh-2</i>	0,002	0,59	0,441
<i>G6pdh-1:Pgi-2</i>	-0,024	2,50	0,114	<i>Pgm-1:Pgm-2</i>	0,013	0,43	0,510
<i>G6pdh-1:Pgm-1</i>	0,020	0,35	0,556	<i>Pgm-1:Skdh-2</i>	0,003	0,79	0,374
<i>G6pdh-1:Pgm-2</i>	0,017	0,45	0,500	<i>Pgm-2:Skdh-2</i>	0,003	1,13	0,287
<i>G6pdh-1:Skdh-2</i>	0,001	0,02	0,898				

## 4 CONCLUSÕES

Todos os locos avaliados apresentaram herança mendeliana simples e nenhum dos pares de locos considerados parece estar em desequilíbrio de ligação, portanto os mesmos podem ser utilizados em subseqüentes estudos genéticos populacionais que requeiram o equilíbrio gamético entre locos (estudos do sistema de reprodução e análise de paternidade), como pressuposição básica.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro ao projeto na forma de bolsa de estudos para o primeiro autor e financiamento do projeto; agradecem, também, aos três revisores anônimos pelas sugestões e correções feitas no prévio manuscrito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. T.; JOLY, R. J. Genetics of allozymes variants in Loblolly Pine. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 71, p. 33-40, 1980.
- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicação em plantas e microorganismos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa - UFV, 1998. 574 p.
- 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.
- 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.
- GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.
- 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.
- 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.
- \_\_\_\_\_.; BURCZYK, J.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance and linkage of some allozymes in *Taxus baccata* L. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 41, p. 342-347, 1992.
- LIU, Z.; FURNIER, G. R. Inheritance and linkage of allozymes and restriction fragment length polymorphisms in Trembling Aspen. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, p. 419-424, 1993.
- 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.
- PASTORINO, M. J.; GALLO, L. A. Inheritance of isozymes variants in *Astrocedrus chilensis* (D. Do) Florin et Boutelje. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 15-20, 1998.
- 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.htm>>. 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.
- WANG, C. T.; LIN, T. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme, and estimation of outcrossing rate in a seed orchard of *Cunninghamia konishii* Hay. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 33-37, 1998.
- 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.



RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em sete locos isoenzimáticos de *Cecropia pachystachya*.

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.