

UFSM

Tese de Doutorado

**DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA
EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Baccharis trimera*
(LESS) DC. (CARQUEJA) NO SUL DO BRASIL**

Neiva Maria Frizon Auler

PPGA

Santa Maria, RS, Brasil

2004

**DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA
EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Baccharis trimera*
(LESS) DC. (CARQUEJA) NO SUL DO BRASIL**

por

Neiva Maria Frizon Auler

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Agronomia.**

PPGA

Santa Maria, RS, Brasil

2004

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado

**DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Baccharis trimer* (Less) DC. (Carqueja) NO SUL DO
BRASIL**

Elaborada por

Neiva Maria Frizon Auler

Como requisito parcial para obtenção do grau de

Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. ALICE BATTISTIN

(Presidente/Orientadora)

Dr. MAURÍCIO SEDREZ DOS REIS

Dra. BEATRIZ HELENA ROCHA

Dra. ELAINE BIONDO

Dr. ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Santa Maria, 13 de dezembro de 2004

A924d	Auler, Neiva Maria Frizon
	Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de <i>Baccharis trimera</i> (Less) DC. (Carqueja) no Sul do Brasil. / por Neiva Maria Frizon Auler ; orientadora Alice Battistin. - Santa Maria, 2004. xvi, 108 f., il.
	Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria – 2004.
	1.Agronomia 2. Produção vegetal 3. Carqueja 4. Variabilidade genética 5.Pólen 6. Plantas medicinais I. Battistin, Alice, orient. II. Título
	CDU: 581.15

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes CRB-10/1160
Biblioteca Setorial do CCR/UFSM

DEDICO,

- *Ao querido **Décio**, pela paciência e compreensão, pelo companheirismo e por compartilhar a esperança de um mundo melhor;*
- *Aos meus filhos **Gustavo** e **Henrique** que, com um simples sorriso, tornam a jornada mais alegre e renovam, a cada dia, a esperança;*
- *A todas "**Marias**" e "**Roselis**", portadoras e disseminadoras de uma sabedoria milenar sobre o valor terapêutico das plantas.*

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só se concretizou porque algumas pessoas acreditaram na importância do mesmo, abrindo portas, criando oportunidades e facilitando o desenvolvimento deste processo. Por isso, meus sinceros agradecimentos:

À professora Alice Battistin, orientadora, pelas sugestões e apoio na realização deste trabalho;

Ao Professor Maurício Sedrez dos Reis, Co-orientador, pelas valiosas sugestões e acompanhamento durante toda a realização deste trabalho;

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade concedida;

Ao Curso de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Federal de Santa Catarina, pela disponibilização do Laboratório na realização das análises de isoenzimas;

À sociedade brasileira que, através do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), financiou a pesquisa;

À Professora Solange B. Tedesco, pela disponibilização do Laboratório de Citogenética, pelo companheirismo e sugestões;

Ao Professor Antonio Carlos Ferreira da Silva, pelo auxílio na germinação das sementes, pela amizade e valiosas sugestões;

Ao Professor Juarez Hoppe e demais funcionários do Viveiro Florestal do Curso de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria, pela disponibilização do espaço para implantação das progênes, pelo apoio e incentivo;

À Professora Thais do Canto Dorow, pela identificação botânica da espécie;

Ao professor José Henrique Souza da Silva, pelo auxílio nas análises estatísticas;

À amiga Andréia Guedes Garcia, pela amizade e sugestões nas análises estatísticas;

Ao Juliano Zago do Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais/UFSC, pelo auxílio na realização do protocolo de isoenzimas;

Ao Adelar Mantovani, pelo apoio na realização das análises das progênies;

Aos proprietários, administradores ou responsáveis pelas áreas onde foram coletadas as amostras de carqueja, pela colaboração e disponibilidade para a realização deste trabalho;

Aos demais membros da banca de qualificação e defesa de tese: Beatriz Helena Rocha, Nerinéia Dalfollo Ribeiro, Lia Rejane Silveira Reiniger e Elaine Biondo pelas valiosas sugestões;

A todos(as) os amigos(as), àqueles que foram verdadeiros companheiros(as), pelo apoio e amizade;

Finalmente, a toda minha família, fundamental para ser o que sou, estar onde estou:

Aos meus queridos pais que, com muita dificuldade, lutaram para ajudar-me a concluir os estudos iniciais;

Aos meus irmãos(as), Egídio, Nilvar e Nivania pelo incentivo e apoio.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO GERAL.....	xiii
GENERAL ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DO ESTUDO.....	06
CAPÍTULO II - NÚMERO DE CROMOSSOMOS, MICROSPOROGÊNESE E VIABILIDADE DO PÓLEN EM POPULAÇÕES DE CARQUEJA [<i>Baccharis trimera</i> (LESS) DC.] DO RIO GRANDE DO SUL E SANTA CATARINA.....	13
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução.....	15
Materiais e Métodos.....	18
Resultados e Discussão.....	21
Conclusões.....	30
Referências Bibliográficas.....	31

**CAPÍTULO III - DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE
GENÉTICA EM CARQUEJA [*Baccharis trimera* (LESS) DC]
UTILIZANDO MARCADORES ISOENZIMÁTICOS.....35**

Resumo.....	35
Abstract.....	36
Introdução.....	37
Materiais e Métodos.....	41
Resultados.....	47
Discussão.....	59
Conclusões.....	67
Referências Bibliográficas.....	68

CONCLUSÕES FINAIS E FUNDAMENTOS PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA E/OU MANEJO DE <i>Baccharis trimera</i>	72
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS.....	75
-----------------------------------------------	-----------

ANEXO A.....	83
--------------	----

ANEXO B.....	84
--------------	----

ANEXO C.....	107
--------------	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 – Nome, sigla e locais de coleta de dez populações naturais de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.....07

CAPÍTULO II

TABELA 1 – Locais de coleta de oito populações de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.....20

TABELA 2- Localização geográfica, altitude, tipo de solo e cobertura vegetal de oito populações de *Baccharis trimera* dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.....21

TABELA 3 – análise da microsporogênese em oito populações naturais de *Baccharis trimera*, procedentes do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.....25

TABELA 4 – Comparação das estimativas (%) da viabilidade do pólen entre corantes dentro de cada população e entre populações

dentro de cada corante, em oito populações de *Baccharis trimera*, provenientes de Santa Catarina e Rio Grande do Sul.....27

CAPÍTULO III

TABELA 1 – Populações, sigla, locais de coleta e número de indivíduos coletados em dez populações naturais de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.....41

TABELA 2 – Altitude, tipo de solo, cobertura vegetal e histórico das dez populações de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil.....42

TABELA 3 – Sistemas enzimáticos utilizados em indivíduos adultos de populações naturais de *Baccharis trimera*, bem como em suas progênies maternas, número de locos observados com possibilidade de interpretação genética (tampão utilizado: Tris-Citrato).....47

TABELA 4 – Frequências alélicas para dez locos isoenzimáticos de indivíduos adultos a partir de dez populações de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.....49

TABELA 5 – Frequências alélicas para oito locos isoenzimáticos a partir de quatro populações para progênies maternas de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.....50

TABELA 6 – índices de diversidade genética para dez populações naturais de *Baccharis trimera* procedentes do Sul do Brasil, obtidos a partir de dez locos em indivíduos adultos.....52

TABELA 7 – Índices de diversidade genética para quatro populações de *Baccharis trimera* procedentes do Rio Grande do Sul, obtidos a partir de oito locos em progênies.....53

TABELA 8 – Estimativa das estatísticas F de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) para indivíduos adultos de dez populações naturais de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil.....54.

TABELA 9 – Estimativa das estatísticas F de Wright para progênies de quatro populações naturais de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil.....54

TABELA 10 – Resumo do teste de Qui-quadrado (χ^2) para os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg, considerando as frequências observadas e esperadas não agrupados e agrupados e equilíbrio de endogamia das dez populações de indivíduos adultos de *Baccharis trimera* procedentes do Sul do Brasil.....56

TABELA 11 — Resumo do teste de Qui-quadrado (χ^2) para os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg, considerando as frequências observadas e esperadas não agrupados e agrupados e

equilíbrio de endogamia das quatro populações de progênies maternas de *Baccharis trimera* procedentes do Sul do Brasil.....56

TABELA 12 – Taxa de cruzamento multilocos (t_m), taxa de cruzamento média de locos isolados (t_s), taxa de cruzamento entre aparentados (t_m-t_s) e taxa de autoecundação (S) estimada em quatro populações naturais de *Baccharis trimera*.....57

RESUMO GERAL

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Baccharis trimera* (Less) DC. (CARQUEJA) NO SUL DO BRASIL.

AUTORA: Neiva Maria Frizon Auler

ORIENTADORA: Alice Battistin

CO-ORIENTADOR: Maurício Sedrez dos Reis

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 13 de dezembro de 2004.

A carqueja (*Baccharis trimera* (Less) DC.) é uma planta nativa da América do Sul, ocorre em vários ambientes, muito utilizada na medicina popular, sendo explorada de forma predatória. O desenvolvimento deste estudo teve como objetivo gerar informações para o estabelecimento de estratégias adequadas para a conservação de recursos genéticos da espécie. Desta maneira, buscou-se informações relativas a aspectos reprodutivos e genéticos da mesma. Nas análises citogenéticas, buscou-se informações a respeito do número de cromossomos, formação dos gametas masculinos (microsporogênese) e viabilidade polínica em oito populações nativas dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Na contagem do número de cromossomos, foram analisadas em média 10 células metafásicas por população. O corante usado foi Giemsa 2% (v/v). Nas análises da microsporogênese, foram comparadas as fases de associação e distribuição dos cromossomos na meiose, a formação de tétrades e viabilidade polínica pelo teste do (2 P(0,01). O corante usado na identificação das células foi o carmim propiônico 2%(m/v) e para a estimativa da viabilidade do pólen foram testados três diferentes corantes: carmim propiônico 2%,orceína acética 2% (m/v) e reativo de alexander. Para a caracterização da variabilidade genética foram coletadas amostras de dez populações naturais de indivíduos adultos e quatro para progênies maternas procedentes do Sul do Brasil. Foram utilizados marcadores alozímicos, revelados a partir de eletroforese em gel de amido (penetrose 30-13%), com tampão eletrodo-gel Tris-citrato para os sistemas enzimáticos ACP, α - EST, β - EST, MDH, PRX, NADHDH e GTDH. Para a caracterização da estrutura genética foram usadas as estatísticas F de Wright. O sistema reprodutivo foi caracterizado a partir da avaliação da

existência de equilíbrio de panmixia e endogamia, bem como a partir da estimativa da taxa de cruzamento multilocos. Os principais resultados revelaram que as populações analisadas são diplóides com $2n=2x=18$ cromossomos. Para as oito populações de *Baccharis trimera*, tanto na meiose I quanto na meiose II, a porcentagem de células normais, índice meiótico e viabilidade do pólen foram acima de 85%. Estes dados indicam que as populações possuem uma microsporogênese normal, no processo evolutivo da espécie, não ocorrendo problemas quando de sua introdução em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes. Na comparação entre os três corantes, foram observadas diferenças significativas entre os mesmos, sugerindo o corante reativo de alexander como o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen nesta espécie. Os resultados obtidos pelos marcadores alozímicos revelaram níveis elevados de diversidades tanto para adultos ($P=71\%$, $A=2,1$, $H_o=0,217$ e $H_e=0,215$), quanto para as progênies ($P=81\%$, $A=2,4$, $H_o=0,272$ e $H_e=0,269$). A maior parte da variabilidade genética de *Baccharis trimera* está dentro das populações ($F_{ST} = 0,0326$), com excesso de heterozigotos para a maioria das populações. Há indicativos de que o tamanho efetivo populacional e o tipo vegetacional são os fatores de maior influência nas diferenças encontradas entre as populações. A espécie é alógama com $T_m=1,05$. As populações estudadas estão em equilíbrio de panmixia e endogamia. Tomados em conjunto, os resultados desta pesquisa fornecem referenciais que possibilitam definir estratégias para a conservação de recursos genéticos da espécie.

Palavras Chave: carqueja, variabilidade genética, pólen, plantas medicinais.

GENERAL ABSTRACT

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

GENETIC VARIABILITY DISTRIBUTION IN NATURAL POPULATIONS OF *Baccharis trimeria* (Less) DC. (CARQUEJA) IN SOUTHERN BRAZIL

Author: Neiva Maria Frizon Auler

Advisor: Alice Battistin

Advisor: Maurício Sedrez dos Reis

Date and place of Defese: Santa Maria, decembre 13, 2004

Carqueja (*Baccharis trimeria*) is a native plant from South America, occurs in several settings, it is highly employed in popular medicine, and has been explored under a grasping way. This study had the purpose of producing information for the establishment of adequate strategies to the conservation of genetic resources of this specie. Assuming this, one searched for information related to the reproductive and genetic aspects of this specie. In the cytogenetics analysis, one looked for information related to the number of chromosomes, formation of male gametes (microsporogenesis) and polinic viability within eight native populations in the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina. In the calculation of the number of chromosomes, an average of 10 metaphasic cells by population was analyzed. It was used Giemsa 2% (v/v) dye. In the microsporogenesis analysis, the chromosomes association and distribution stages in the meiosis, as well as the formation of tetrads and polinic viability by the test of (2 (P(0,01) were compared. The dye used in the cells identification was propionic carmin 2% (m/v) and for the estimate of pollen viability, three different dyes were tested: propionic carmin 2%, orcein acetic 2% (m/v) and alexander reaction. For the genetic variability classification, samples of ten natural populations of adults and four to maternal progenies, come from southern Brazil, were collected. Allozyme markers were used, revealed from the electrophoresis in starch gel (penetrose 30 at 13%), with Tris-citrate gel-electrode buffer for the ACP, α - EST, β - EST, MDH, PRX, NADHDH and GTDH enzymatic systems. For the genetic structure portrayal, F de Wright's statistics were used. The

reproductive system was classified from the evaluation of the existence of panmixy and inbreeding equilibrium, as well as from the multiloci rate crossing estimate. The main results revealed that the populations analyzed are diploids with $2n=2X=18$ chromosomes. Within the eight populations of *Baccharis trimera*, either in meiosis I and meiosis II, the percentage of normal cells, meiotic index and pollen viability was up to 85%. These data indicate that the populations have a normal microsporogenesis in the development process of the specie, having no problems in its introduction to selection, crossing and seed production programs. When comparing the three dyes, significant differences were observed among them, what suggests that alexander reaction may be the most reliable in order to estimate the pollen's viability in this specie. The results obtained from the allozyme markers revealed high levels of diversity either in adults ($P=71\%$, $A=2,1$, $H_o=0,217$ and $H_e=0,215$) and progenies ($P=81\%$, $A=2,4$, $H_o=0,272$ e $H_e=0,269$). Mostly of the genetic variability of *Baccharis trimera* is inside the populations ($F_{ST} = 0,0326$), with a surplus of heterozygotes in most populations. There are indicators that the effective populational size and the vegetation type are the most influential factors in the differences found among the populations. The specie is allogamic with $T_m=1,05$. The populations studied are under an equilibrium of panmixy and inbreeding. If taken together, the results of this research give referential that can define strategies for the conservation of genetic resources of this specie.

Key-words: carqueja, genetic variability, pollen, medicine plants

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil, considerado o país de maior biodiversidade, apresenta, entre as 250.000 espécies vegetais estimadas para o mundo, cerca de 60.000 espécies nativas (CENARGEN, 1995). Além de sua grande extensão territorial, este aspecto está relacionado com a existência de uma grande quantidade de diferentes situações climáticas, geomorfológicas e de solos, o que resulta na grande variedade de tipos vegetacionais. Este potencial desconhecido de ecossistemas, espécies e genes, constitui-se numa fronteira de valor inestimável que vem, ao longo do tempo, sendo utilizado de maneira intensa, das mais diversas formas: alimentos, fibras, madeiras, medicamentos, ornamentais, energia, dentre outras (Scheffer *et al.*, 2004).

A destruição destes habitats e a conseqüente fragmentação de populações naturais têm levado muitas espécies a atingirem uma limitação evolutiva, decorrente da perda de variabilidade genética, aspecto que reduz a habilidade das populações em se adaptarem a mudanças ambientais. Perdas deste potencial, antes mesmo de ter-se o conhecimento do mesmo, vêm levando à degradação de recursos genéticos de inúmeras espécies, com prejuízos ecológicos irrecuperáveis, tais como: diminuição do tamanho das populações, perda de genes e genótipos, degradação do solo, redução nos mananciais de água, diminuição da qualidade do ar, entre outros (Kageyama & Dias, 1982; Barret & Kohn, 1991; Oyama, 1993; Nodari *et al.*, 1993; Mcneely *et al.*, 1995; Guerra *et al.*, 1999).

Segundo Scheffer *et al.* (2004), nos dias atuais, com o enorme desenvolvimento tecnológico, os recursos genéticos vêm adquirindo uma importância cada vez maior, provocando discussão sobre uma nova relação entre os denominados países desenvolvidos e os em

desenvolvimento. No caso de plantas medicinais, estes recursos assumem importância estratégica, pois as graves deficiências do sistema de saúde oficial e a baixa renda da população, associadas aos conhecimentos acumulados pelas comunidades, fazem com que grande parte da população utilize as plantas medicinais como recurso terapêutico.

Conforme relata Di Stasi (1996), cerca de 80% da população mundial vive nos países denominados subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, e apenas 20% habita os denominados desenvolvidos, sendo estes últimos responsáveis pelo consumo de 85% dos medicamentos industrializados disponíveis no mercado. Quanto ao Brasil, segundo a OMS, 63% dos medicamentos são consumidos por 20% da população. Assim, a maior parcela da população encontra, nos produtos de origem natural, a principal fonte de recurso terapêutico.

Além da destruição florestal acelerada para diversas finalidades, extrativismo predatório e queimadas. Este potencial está também ameaçado pela bioprospecção de genes e de novas moléculas – alvo predileto das indústrias de cosméticos, de higiene, e da agroindústria devido aos grandes avanços da biotecnologia.

Segundo documento da EMBRAPA/IBAMA (2002), as 300 espécies de plantas medicinais de diferentes famílias botânicas, identificadas até o momento, representam menos de seis por cento do potencial brasileiro – mercado que gira em torno de meio trilhão de dólares/ano a nível mundial, e, no Brasil, corresponde à cerca de US\$ 260 milhões/ano. Um quinto destas (60 espécies) estão na lista oficial de espécies da flora ameaçadas de extinção. Apesar deste imenso potencial brasileiro, apenas uma pequena parcela tem sido pesquisada cientificamente para produção de fármacos.

Entre as espécies medicinais mencionadas situa-se a carqueja (*Baccharis trimera*). Utilizada, na medicina popular, durante séculos, como estimulante do fígado, para diabetes, obesidade, facilitadora da

digestão, reumatismo, entre outros (Cruz, 1962; Balbach, 1963). Além de ser uma das mais usadas na farmacopéia, a carqueja apresenta características econômicas e ecológicas importantes: Opção agrícola, portanto, geradora de renda para a pequena propriedade; fabricação de cervejas, bebidas e refrigerantes; por ser espécie melífera, agrega valor significativo, na manutenção de polinizadores, para as demais espécies deste importante ecossistema; desenvolve-se em solos ácidos, esgotados, bem drenados, pobres em nutrientes e matéria orgânica. Esta última característica possibilita sua utilização na recuperação de áreas degradadas (Correa, 1926).

Considerando o nível de exploração e a urgente necessidade de conservação e manejo, *B. trimera* foi selecionada como uma das prioritárias para a realização de estudos de conservação e manejo, no ecossistema da Mata Atlântica (EMBRAPA/IBAMA, 2002). Ainda conforme o relatório mencionado, a espécie está entre as mais procuradas para exportação; estando, também, entre as dez espécies mais utilizadas na fitoterapia, no Rio Grande do Sul (EMATER/RS, 2003).

A conservação deste recurso tornar-se-á mais eficaz buscando-se parcerias com as populações que vivem nas regiões de sua ocorrência e, conforme Reis (1996 a), levando-se em consideração o valor das plantas medicinais, não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos para as pequenas propriedades rurais, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo, aspecto aliado à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais.

As populações vegetais apresentam diversas estratégias de estabelecimento e estas podem ser consideradas como um conjunto de características genéticas que facilitam sua sobrevivência e/ou reprodução no ambiente (Piña-Rodrigues *et al.*, 1990). Estas estratégias de reprodução, crescimento e colonização têm sido bastante utilizadas na

compreensão da dinâmica das populações e das comunidades vegetais ao longo do tempo, sendo fundamentais para o conhecimento das melhores estratégias de manejo e conservação genética.

A presente pesquisa procurou contribuir na elucidação de alguns pontos considerados fundamentais para a obtenção de critérios de conservação da carqueja. Desta forma, os estudos da estrutura genética e aspectos citogenéticos, objetivos principais deste trabalho, procuraram contribuir para o conhecimento da organização e distribuição da variabilidade entre e dentro de populações naturais da carqueja. Segundo Oyama (1993), este entendimento é fundamental para a escolha de estratégias destinadas à conservação e exploração das populações em seu habitat natural, com a perspectiva da manutenção da diversidade e garantia da sustentabilidade.

Neste sentido, foram avaliados: 1) Aspectos citogenéticos relacionados a microsporogênese (meiose) e zonas meristemáticas de crescimento (mitose); 2) Obtenção de estimativas da distribuição da variação genética entre e dentro de populações naturais da espécie; 3) Distribuição desta variação em nível geográfico, local e regional; 4) Distribuição da variabilidade genética de populações da espécie sob condições de conservação e com histórico de extração, bem como estimada a taxa de cruzamento da espécie.

Quanto à estrutura do trabalho, no capítulo I, caracteriza-se as áreas de coleta das dez populações analisadas, localizadas nos três Estados da região Sul do Brasil.

A apresentação dos capítulos II e III segue as normas da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, considerando que foram configurados na perspectiva de sua publicação na mesma.

No capítulo II, são apresentados os resultados dos aspectos citogenéticos e da viabilidade do pólen para as oito populações dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

O capítulo III apresenta e discute informações obtidas através de marcadores de isoenzimas, sobre a distribuição de alelos, estrutura genética e sistema reprodutivo de *Baccharis trimera* de dez populações dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.

Nas considerações finais, balizadas pelas pesquisas descritas e analisadas nos capítulos II e III, discute-se implicações para a conservação de recursos genéticos e manejo sustentável da espécie.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DO ESTUDO

Na Figura 1 e Tabela 1, apresenta-se a localização geográfica e a descrição dos locais de coleta das amostras das dez populações de *Baccharis trimera* analisadas neste estudo. A seguir, descreve-se as principais características de cada um das populações.

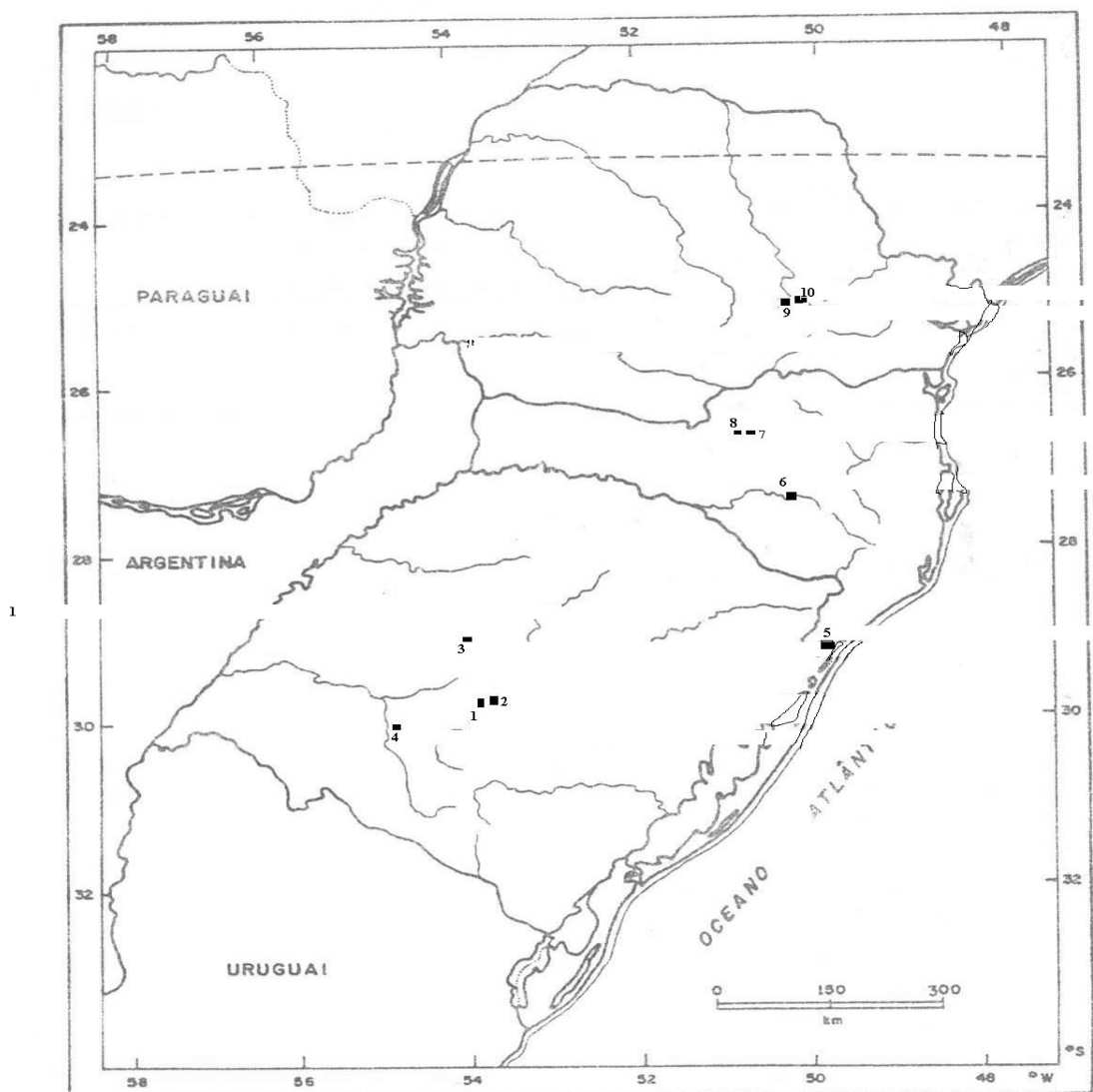


FIGURA 1 - Mapa com localização geográfica e coordenadas do locais de coleta de *Baccharis trimera*..

TABELA 1 – Nome, sigla e locais de coleta das dez populações naturais de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.

Populações	Sigla	Município/Estado
1. Campus/UFSM	UFSM	Santa Maria/RS
2. Arroio Grande	AGE	Santa Maria/RS
3. Reserva Biológica da Corsan	RBC	Val da Serra/RS
4. São Vicente do Sul	SVS	São Vicente do Sul/RS
5. Torres	TOR	Torres/RS
6. Fazenda Amola Faca/EPAGRI	FAF	Lages/SC
7. Caçador	CAC	Caçador/SC
8. Caçador/EPAGRI	EPA	Caçador/SC
9. Turvo	TUR	Turvo/PR
10. Turvo (manejada)	TUM	Turvo/PR

SANTA MARIA – UFSM e AGE

Santa Maria fica localizada na Depressão Central (entre o Planalto e a Serra do Sudeste com altitude de até 200m, coordenadas 39° 51' 25" latitude Sul e 53° 48' 42" longitude Oeste. O clima é do tipo Cfa - Clima subtropical úmido sem estiagem, com temperatura máxima de 22°C a – 3,8°C (inverno). Com solos profundos, avermelhados, textura superficial arenosa, bem drenados, ácidos, pobres em matéria orgânica (argissolo). A cobertura vegetal predominante é Floresta Estacional Decidual. Na região de Santa Maria foram coletadas duas populações:

A primeira (UFSM) foi coletada no campus da Universidade Federal de Santa Maria, distribuída em uma área próxima ao Jardim Botânico da UFSM e em uma área de pastagens, próxima ao Colégio Agrícola da mesma Instituição. O primeiro local é uma área relativamente pequena, antropizada principalmente por animais (gado), porém, com grande número de indivíduos. Na área próxima ao Jardim Botânico, há poucos indivíduos, sendo realizada roçadas durante o ano. A vegetação ao redor é composta principalmente por pinus e gramíneas. Nesta área é observada também a ocorrência de alguns indivíduos de espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*).

Uma segunda população (AGE) foi coletada no distrito de Arroio Grande. Constitui-se de uma área de pastagens, situada entre a Serra Geral e as grandes lavouras de arroz. Esta população fica distante da

UFSM cerca de 10 km. Nesta área observa-se a ocorrência de um grande número de indivíduos da espécie. Juntamente com a carqueja, ocorrem outras espécies de *Baccharis* como alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) e *Baccharis articulata*. Nesta área também são realizadas roçadas para eliminar a carqueja dos pastos.

RESERVA BIOLÓGICA DA CORSAN (IBICUI-MIRIM) – RBC

A Reserva Biológica da CORSAN (Companhia Rio-Grandense de Saneamento e Abastecimento de Água) está situada ao norte da sede do município de Santa Maria (São Martinho da Serra e Val da Serra), com altitudes, entre 280 a 448m. É Unidade de Conservação criada através do Decreto Estadual nº 30.930 de 12.11.1982, sendo de propriedade da CORSAN, com área de 575 ha. Nessa reserva está localizada a bacia de captação de água da cidade de Santa Maria.

A cobertura vegetal da reserva é composta por uma mata alta e espessa, formada por uma mistura da flora da Floresta Estacional Decidua da Bacia do Rio Uruguai, Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista (Longhi – comunicação pessoal). A área onde foi coletada *Baccharis trimera* está localizada próxima a esta reserva. O ambiente encontra-se bastante degradado pela construção de uma barragem. Neste local, a vegetação principal é composta por mata ciliar que apresenta espécies como *Sebastiania klotzschiana* (branquilha), *Calliandra tweedai* (sarandi), *Phyllanthus sellowianus* (sarandi), *Myrciaria tenella* (cambuí), *Sebastiania brasiliensis* (leiteiro), *Arescatrum ramanzofianum* (jerivá) *Schinus molle* (aroeira-salsa), *Casearia sylvestris* (cafeeiro-do mato). A área de campo é composta de espécies rizomatosas como *Paspalum notatum* (grama-forquilha), *Axonopus fisifolius* (grama jesuíta), além de espécies como *Aristida pallens* (barba-de-bode), *Baccharis trimera* (carqueja) e *Eryngium horridum* (caraguatá). A área onde foi coletada a carqueja tem cerca de três hectares com grande número de indivíduos. A presença de carqueja, de forma mais intensa, é

notada em áreas de pastagens antropizadas, próximas à barragem (CORSAN, 1992).

SÃO VICENTE DO SUL - SVS

A população SVS localiza-se no município de São Vicente do Sul, distante aproximadamente 70 km de Santa Maria, com altitude de 124 m. O local onde foi coletada carqueja é uma região de coxilha, com plena incidência solar, sendo usada para pastagens, com aproximadamente 40 hectares. A vegetação predominante é de campo nativo. Nesta área, a carqueja ocorre de forma numerosa, formando grandes aglomerados com predominância de plantas femininas (observações feitas durante a coleta de pólen). Observa-se a ocorrência de espécies do campo de nativo, bem como de uma grande quantidade de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo). A área de carqueja é recente, pois há cerca de cinco anos havia lavoura nesta região. A carqueja também é observada, de forma numerosa, em outras áreas próximas deste local.

TORRES – TOR

A área de coleta situa-se no município de Torres, na divisa com o Estado de Santa Catarina, com altitude média de 12 metros, longitude 49° 44' Oeste e 29° 18' latitude Sul. Os indivíduos encontravam-se espalhados e em número reduzido, numa área degradada e de intensa intervenção antrópica. É área de domínio de Floresta Ombrófila Densa. O ambiente apresenta-se bastante antropizado, com pastagens e atividade humana. A coleta foi realizada, nesta área, procurando contemplar gradientes de altitudes.

CAÇADOR – CAC e EPA

Na região de Caçador foram coletadas duas populações. A primeira, Epagri – Caçador (EPA), foi coletada na área da Reserva Genética de Caçador, a qual está estimada em 900 hectares, sendo que

ocorre carqueja em cerca de 10 hectares. As amostras foram coletadas em uma área aberta, dentro da reserva. Sua vegetação é constituída pela Floresta Ombrófila Mista, destacando-se o pinheiro brasileiro (*Araucaria angustifolia*). A característica principal da formação florestal, com dominância de araucária, é a associação com imbuía (*Ocotea porosa*), araçá (*Psidium cattleianum*), bracatinga (*Mimosa scabrella*), camboatá-vermelho (*Cupania vernalis*), canela-amarela (*Nectandra* ...), canela-do-brejo (*Ocotea pulchella*), cedro (*Cedrela fissilis*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*), guamirim (*Gomidesia palustris*), guabirobeira (*Capomanesia xanthocarpa*), entre outras. Nesta área, além de carqueja (*Baccharis trimera*), ocorrem outras espécies medicinais como: pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*), cavalinha (*Equisetum arvense*), erva-de-bicho (*Polygonum hidropiper*), menstruz (*Lipidium sativum*), e outras ainda não identificadas

A região onde se encontra esta população apresenta solos argilosos, bem drenados, medianamente profundos, sendo considerados ácidos, com elevados teores de alumínio trocável e matéria orgânica, com baixa saturação de bases. O clima é do tipo Cfb, clima mesodérmico, subtropical úmido, com verões frescos, sem estação seca definida e com ocorrência de geadas severas e freqüentes. A reserva caracteriza-se por relevo ondulado com rios formando vales, colinas alongadas e bem esculpidas, latitude 26° 46' 31", longitude 26° 46' 31" e altitude de 920 metros. Um número significativo de indivíduos foram roçados meses antes da coleta.

A segunda área de coleta (CAC) fica distante cerca de 8 km desta, com área de pastagens, próxima ao horto municipal de Caçador, com vegetação relativamente conservada no seu entorno e com grande número de indivíduos. Porém, com área reduzida, aproximadamente dois hectares. Nas regiões próximas também foi observada a ocorrência da espécie.

LAGES – FAZENDA AMOLA FACA – FAF

Esta área de 288 hectares pertence à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e localiza-se a 20 km do centro da cidade de Lages, direção oeste. O histórico da área da fazenda Amola Faca revela a ocorrência de uma intensa perturbação antrópica, a ponto de encontrar-se atualmente, bastante degradada em termos de vegetação, o que pode significar, também, degradação genética. A maior parte da vegetação rasteira é composta por espécies que formam o campo nativo da região. Contudo, em algumas partes, o processo sucessional está ocorrendo, observando-se a presença de espécies arbustivas arbóreas e taquaras. Os indivíduos de *Baccharis trimera* foram coletados em uma área aberta, situada dentro da reserva, e em uma área próxima da reserva (área de pastagem). Neste local, os indivíduos ocorrem de forma numerosa.

TURVO – TUR e TUM

Localizado na região central do Estado do Paraná, o município de Turvo encontra-se em área de Floresta Ombrófila Mista. O clima é subtropical úmido, mesotérmico, com verões quentes com tendência de concentração de chuvas (temperatura média superior a 22°C, inverno com geadas pouco frequentes, sem estação seca definida). O município está situado a uma altitude de 1.044m e coordenadas em 25° e 00' latitude Sul e 51° e 30' de longitude Oeste. O solo é argiloso roxo, distrófico.

Nesta região, foram coletadas duas populações. Uma (TUR) denominada "Sítio Recanto da Natureza", situada em uma área de 19 hectares, porém, com número reduzido e espaçado de indivíduos. A área pertence a uma família que pratica agricultura orgânica. Segundo informações dos proprietários, o local foi desmatado há cerca de dois anos (da data da coleta), e parte dele está sendo reflorestado com erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e espécies medicinais como pata-de-vaca

(*Bauhinia forficata*) e espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*). Neste local não é realizada extração de carqueja para comercialização.

Uma segunda área, com cerca de três hectares (TUM), pertence a uma família que sobrevive da coleta e cultivo de espécies medicinais. Neste local, as plantas de carqueja também são reduzidas e espaçadas. É feita a extração (coleta) de parte dos indivíduos de carqueja. Além da carqueja, outras espécies também são extraídas (coletadas), entre elas, chapéu de couro (*Echinodorus macrophyllus*), cavalinha (*Equisentum arvense*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*), sete sangrias (*Cuphea catarginensis*) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*). Outras ainda são cultivadas: camomila (*Matricaria chamomilla*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e sálvia (*Salvia officinalis*).

As informações sobre o histórico das populações foram obtidos junto aos proprietários e entidades responsáveis pelas áreas. O solo foi descrito conforme Streck *et al.* (2002).

CAPÍTULO II

Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.] do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo obter informações a respeito do número de cromossomos, formação dos gametas masculinos (microsporogênese) e viabilidade polínica, em oito populações de *Baccharis trimera* (carqueja), nativas nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sob diversas condições edafo-climáticas e tipos vegetacionais. Na contagem do número de cromossomos, foram analisadas em média 10 células metafásicas por população. O corante usado foi Giemsa 2% (v/v). Nas análises da microsporogênese, foram comparadas as fases de associação e distribuição dos cromossomos na meiose, a formação de tétrades e viabilidade polínica pelo teste do χ^2 ($\alpha = 0,01$). O corante usado na identificação das células foi o carmim propiônico 2% (m/v), e para a estimativa da viabilidade do pólen foram testados três diferentes corantes: carmim propiônico 2%, orceína acética 2% (m/v) e reativo de alexander. As populações analisadas são diplóides com $2n=2x=18$ cromossomos. Nas oito populações de *Baccharis trimera*, tanto na meiose I quanto na meiose II, a porcentagem de células normais, índice meiótico e viabilidade do pólen foram acima de 85%. Estes dados confirmam que as populações possuem uma microsporogênese normal, no processo evolutivo da espécie, não ocorrendo problemas quando da sua introdução em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes. Na comparação entre os três corantes, foram observadas diferenças significativas entre os mesmos, sugerindo o corante reativo de alexander como o mais confiável para estimar a viabilidade do pólen nesta espécie.

Palavras-chave: plantas medicinais, carqueja, pólen, cromossomos.

Number of chromosomes, microsporogenesis and pollen viability in populations of carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.] from Rio Grande do Sul and Santa Catarina (Southern Brazil).

ABSTRACT: The objective of this paper was to search for information regarding the number of chromosomes, the formation of male gametes (microsporogenesis) and the pollen viability in eight populations of *Baccharis trimera* (carqueja) native from the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina (Southern Brazil) under several edaphic-climatic and vegetational conditions. As for chromosome counting, an average of 10 metaphasic cells were analyzed by population. The dye used was Giemsa 2% (v/v). In the analysis of microsporogenesis, comparisons were established between the phases of association and distribution of chromosomes during meiosis, the formation of tetrads and the pollen viability by the χ^2 ($\alpha = 0,01$) test. The dye used to identify the cells was propionic carmine 2% (m/v), and three different dyes were tested to estimate pollen viability: propionic carmine 2% (m/v), orcein acetic 2% (m/v) and alexander reaction. The populations under analysis are diploid with $2n=2X=18$ chromosomes. In all the eight populations of *Baccharis trimera*, both during meiosis I and meiosis II, the percentage normal cells, the meiotic rate, and the pollen viability were above 85%. The results support the thesis that the populations analyzed have normal microsporogenesis in the evolutionary process of the species, not presenting any problems for being introduced into programs of selection, crossing and seed production. As for the comparison between the three dyes, significant differences were observed suggesting alexander reaction as being the most reliable in estimating pollen viability for the species.

Key-words: medicinal plants, carqueja, pollen, chromosomes.

1. INTRODUÇÃO

Baccharis trimera (Less) DC. popularmente conhecida como carqueja, carquejinha ou carqueja amarga pertence à família Asteraceae. É também conhecida por diversas sinónimas no Brasil: *Baccharis genistelloides* var. *trimera*, *Baccharis triptera*, *Cacalia decurrens*, *Coniza genietelloides*, *Molina reticulata* e *Molina trimera*. É uma planta herbácea, perene e ereta com até 80 centímetros de altura. Ocorre em todo Brasil, desde o nível do mar até altitude de 2.800 m. Desenvolve-se em solos ácidos, pobres em nutrientes e matéria orgânica, nos campos nativos, com solos de textura média e bem drenados. Em solos férteis e úmidos, se desenvolve de forma mais exuberante, apresentando resistência à geadas. É uma espécie dióica e propaga-se tanto vegetativamente como por sementes. A multiplicação vegetativa ocorre a partir de rizomas e, com isso, formam-se as touceiras que vão aumentando de tamanho (Correa, 1926; Hansel, 1992).

A carqueja é muito usada na farmacopéia popular, atribuindo-se a ela várias propriedades, especialmente a de estimular o sistema digestivo, para combater gripes, febre, problemas intestinais, diabetes, impotência, entre outros (Cruz, 1962; Balbach, 1963). Esta planta faz parte da composição de inúmeros chás emagrecedores a venda em lojas de produtos naturais (Montanari, 1999). É ainda usada na indústria de cervejaria como substituto do lúpulo, na aromatização de refrigerantes e de licores (Correa, 1926). É uma planta muito visitada por abelhas durante a sua floração (Hansel, 1992) portanto, de importância ecológica na manutenção de polinizadores para outras espécies de seu ecossistema, podendo ser usada também na apicultura.

A destruição da flora nativa, causada principalmente pela expansão agrícola, exploração madeireira e o extrativismo predatório, representa grande ameaça a inúmeras espécies de plantas medicinais. Aliado ao atual avanço e revalorização destas espécies, têm aumentado o interesse das indústrias farmacêuticas e cosméticos, com isso a pressão econômica

sobre estes recursos naturais tem crescido aceleradamente, colocando em perigo a sobrevivência de várias destas espécies, antes mesmo de conhecido seu potencial de uso. Conforme Reis (1996a) considerando-se o valor das plantas medicinais, não só como recurso terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos para as pequenas propriedades rurais, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo, tendo em vista a utilização destas espécies pela humanidade, aspecto aliado a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais.

Neste contexto, considerando-se o nível de exploração e a urgente necessidade de conservação e manejo, *Baccharis trimera* foi selecionada como uma das prioritárias para realização de estudos de conservação e manejo, no ecossistema da Mata Atlântica (EMBRAPA/IBAMA, 2002). Além disso, está entre as dez espécies mais utilizadas na fitoterapia no Rio Grande do Sul, conforme relatório da EMATER/RS (2003).

Assim, as análises citogenéticas podem trazer contribuições no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e dos trabalhos de melhoramento da espécie. Estas pesquisas têm contribuído para o estudo da evolução, principalmente porque os cromossomos constituem o próprio material genético, o que os torna significativos para o entendimento da história evolutiva das espécies. Cada cromossomo ou par de cromossomos representa papel decisivo no desenvolvimento do indivíduo. Por isso, o número de cromossomos e as variantes que cada um deles apresenta, dentro de uma espécie, são dados importantes para a determinação da posição sistemática das espécies (Guerra, 1988). Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação de plantas. Neste contexto, o número cromossômico é um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie que aliado a outros caracteres citológicos, fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas.

Além da contagem cromossômica, os estudos citogenéticos envolvem a análise da meiose. Considerando-se que é durante a meiose que ocorre a recombinação dos genes, e os eventos da gametogênese são controlados por um grande número de genes, a meiose é considerada uma fonte de variabilidade genética que os organismos possuem para se adaptar ao meio ambiente em que vivem e, dessa forma, garantir a sua perpetuação através da descendência (Golubovkaya, 1979; Singh, 1993; Nassar & Freitas, 1997; Pagliarini, 2002).

A viabilidade do pólen é um parâmetro de grande importância no estudo de plantas, pois, além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, contribui em estudos taxonômicos, ecológicos e palinológicos, fornecendo informações básicas para a aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de algum tipo de melhoramento ou cultivo (Alexander, 1980; Arroyo, 1981; Guinet, 1989).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo obter informações a respeito do número de cromossomos, formação dos gametas masculinos (microsporogênese) e viabilidade polínica, em oito populações de *Baccharis trimera*, nativas nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sob diversas condições edafo-climáticas e tipos vegetacionais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram feitas no Laboratório de Citogenética Vegetal, do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil.

O material botânico utilizado compreendeu sementes e botões florais de oito populações nativas coletadas nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, sob diversas condições edafo-climáticas e tipos vegetacionais (Tabelas 1 e 2).

Para a determinação do número de cromossomos, sementes de *Baccharis trimera* foram germinadas, em placas de petri, com meio de cultura agar 6%, em um germinador com fotoperíodo (12h/12h), com temperatura em torno de 25°C. Radículas de cinco a oito milímetros de comprimento foram coletadas pré-tratadas a frio, numa temperatura em torno de 4°C, por 24 horas. Após fixadas em álcool absoluto-ácido acético (v/v), na proporção 3:1, por quatro horas, em temperatura ambiente. Após a fixação, foram estocadas em álcool 70% em geladeira. Na preparação das lâminas, as radículas pré-tratadas foram lavadas em água destilada e hidrolisadas em ácido clorídrico (HCl) 1N, de cinco a dez minutos. O corante usado foi Giemsa, seguindo protocolo de Guerra (2002). As análises foram realizadas nas células cujos cromossomos apresentavam-se completamente espalhados e bem condensados, em microscópio óptico com aumento de 1000X. Dez metáfases por população, identificadas no microscópio, foram registradas no computador através do programa PixelView, com aumento de 1000X. Após seguiu-se a contagem do número de cromossomos.

Para a microsporogênese e viabilidade polínica os botões florais foram coletados em diferentes fases de desenvolvimento, fixados em etanol-ácido acético (3:1), mantidos em temperatura ambiente de quatro

a seis horas, ou na geladeira durante 24 horas. Após, o material foi transferido para o álcool 70% e armazenado na geladeira.

Na análise da microsporogênese, as anteras foram esmagadas em ácido acético 45% e coradas com carmim propiônico 2%. Nas associações dos cromossomos em diacinese e metáfase I, foram consideradas células normais as que apresentaram nove bivalentes e na disjunção dos cromossomos em anáfase e telófase I, aquelas com separação regular de nove cromossomos duplicados em cada pólo. A disjunção dos cromossomos também foi analisada em anáfase e telófase II, considerando-se células normais aquelas que apresentaram distribuição de nove cromossomos simples para cada pólo. As tétrades, que apresentaram números diferentes de quatro, como díades, tríades etc., foram consideradas células com anormalidades. O índice meiótico (IM) foi calculado de acordo com Love (1949): $IM = \frac{\text{número de tétrades normais}}{\text{número total de tétrades}} \times 100$. Foram consideradas estáveis meioticamente as populações que apresentaram IM acima de 85%.

A estimativa da viabilidade do pólen foi comparada com os corantes: orceína acética 2%, carmim propiônico 2% e reativo de alexander (verde-malaquita + fucsina ácida, Alexander, 1980), conforme Protocolo de Técnicas Citogenéticas do Laboratório de Citogenética da UFSM (Battistin, 2000). Foram considerados inviáveis os grãos que apresentaram tamanho visivelmente anormal, coloração fraca, protoplasma reduzido e/ou ausente, e viáveis os que apresentavam a exina intacta, protoplasma bem corado com distribuição homogênea.

Os dados foram obtidos das análises de 15 indivíduos por população, onde foram escolhidos ao acaso três botões florais por indivíduo, para cada corante. Em cada lâmina os grãos de pólen foram contados em quatro campos inteiramente casualizados.

Dos dados obtidos das diferentes fases da microsporogênese e do índice meiótico, foram feitas comparações entre as populações, e, na

estimativa da viabilidade do pólen, foram feitas comparações entre e dentro de cada população, para o três corantes, com a utilização do teste do χ^2 com $\alpha = 0,01$. Para estas análises foi utilizado o programa estatístico SAS (SAS, 1996).

TABELA 1 – local de coleta de oito populações de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.

População	Sigla	Município
1. UFSM –Campus	UFSM*	Santa Maria / RS
2. Arroio Grande	AGE	Santa Maria / RS
3. Reserva Biológica da CORSAN***	RBC	Val da Serra / RS
4. São Vicente do Sul	SVS	São Vicente do Sul / RS
5. Torres	TOR	Torres / RS
6. Fazenda Amola Faca	FAF	EPAGR/ Lajes / SC
7. Caçador	CAC	Caçador / SC
8. Reserva da EPAGRI****– Caçador	EPA	EPAGRI/ Caçador / SC

* (UFSM) Universidade Federal de Santa Maria; *** (CORSAN) Companhia Rio Grandense de Saneamento e Abastecimento de Água; **** (EPAGRI) Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.

TABELA 2 – Localização geográfica, altitude, tipo de solo e cobertura vegetal de oito populações de *Baccharis trimera* (Less) DC. dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Santa Maria/RS - UFSM – 2004.

Populações	Coordenadas	Altitude(m)	solo	Vegetação
1. UFSM	39°51' 25" S 53° 48' 42" W	113	Argissolo	Floresta Estacional Decidual
2. AGE	39°51' 48" S 53° 46' 42" W	113	Argissolo	Floresta Estacional Decidual
3 . RBC	29° 41' 25" S 53° 48' 42" W	450	Neossolo litólico	Estacional/Ombrófila Densa/Ombrófila Mista
4 . SVS	40° 51'25" S 54°40' 00" W	124	Argissolo	Campo (Estepe Estacional)
5 . TOR	29° 18' S 49° 44' W	12	Argissolo arenoso	Floresta Ombrófila Densa.
6 . FAF	27° 48' 58" S 50°19' 34" W	918	Cambissolo	Campos do Planalto
7 . CAC	26° 46' 32" S 51' 00' 50" W	950	Nitossolo (avermelhado)	Floresta Ombrófila Mista
8 . EPA	26° 46' 32" S 51' 00' 50" W	950	Nitossolo (avermelhado)	Floresta Ombrófila Mista

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Número de cromossomos

Nas células metafásicas, obtidas na região do meristema radicular, nas oito populações de *Baccharis trimera*, foi confirmado serem plantas diplóides apresentando número de cromossomos $2n = 2X = 18$ (Figura 1 A). O número cromossômico pode trazer informações mais seguras sobre a afinidade de uma espécie com outras do que as comparações morfológicas. Juntamente com as demais características citológicas, auxilia no entendimento de variações genéticas envolvidas na evolução do grupo. Uma vez que os cromossomos constituem o próprio material

genético, qualquer alteração nos mesmos, são sempre significativas no rumo evolutivo das espécies (Guerra, 1988).

Nas populações de Corsan (COR), Amola Faca (FAF) e Torres (TOR), foram observadas células poliplóides nos indivíduos analisados, porém em níveis pouco expressivos, cerca de 1,5%. Esta característica é comumente encontrada em espécies nativas, especialmente em leguminosas, que possuem com freqüência polissomatia em células meristemáticas (Garcia & Battistin, 2002).

Das espécies utilizadas na medicina popular, algumas delas já tem o número de cromossomos determinado. Por exemplo: na família Asteraceae a espécie *Achyroline satureiodes* com $2n = 2X = 14$ cromossomos (Ming, 1998); em 12 populações de *Mikania micrantha*, foram encontradas oito populações com $2n = 2X = 36$ e 42 , e quatro (tetraplóides) com $2n = 4X = 72$ cromossomos (Maffei *et al.*, 1999); na família Amaranthaceae, a espécie *Pffafia glomerata* com $2n = 2X = 26$ (Tascheto & Pagliarini, 2000). No gênero *Discaria*, foram encontrados: *D. articulata*, *D. chacaye* e *D. trimera*, com $2n = 2x = 22$ e *D. americana* (tetraplóide) com $2n = 4X = 44$ cromossomos (Tortosa, 1983).

3.2. Microsporogênese

Os resultados obtidos através das análises nas fases da microsporogênese, estão registrados na Tabela 3 e Figuras 1B, 1C, 1D.

Nas oito populações de *Baccharis trimera*, tanto na meiose I como na meiose II, a amplitude de variação da porcentagem de células normais ficou contida entre 86,04% a 97,34%. Nas oito populações da espécie ocorreram diferenças pouco expressivas, ainda que significativas (Tabela 3), entre as mesmas, em todas as fases.

Na diacinese (Figura 1B) e metáfase I o maior percentual de normalidade foi para a população EPA (97,34%) e o menor para UFSM (88,89%). As mesmas evidenciaram diferenças significativas entre si (Tabela 3). EPA diferiu também das populações RBC e TOR, não apresentando diferenças em relação às populações: AGE, SVS, FAF e CAC. Para anáfase e telófase I, FAF foi aquela que apresentou o maior percentual de normalidade (97,31%), não diferindo das populações de AGE, CAC e EPA. Enquanto que o menor percentual ocorreu na população de TOR (87,50%), sendo que a mesma não diferiu de UFSM (Tabela 3).

Na metáfase II, o maior percentual foi para a população de SVS (97,24%) e o menor para TOR (86,04). As mesmas diferiram. SVS não apresentou diferenças estatísticas quando comparada com UFSM, AGE, FAF, CAC e EPA. Além de SVS, TOR também diferiu estatisticamente de CAC, não diferindo das demais (Tabela 3).

Na anáfase/telófase II (Figura 1C), o maior percentual foi para CAC (96,68%) e o menor para TOR (88,90%). Estas populações diferiram estatisticamente entre si. CAC apresentou também diferenças de UFSM e EPA. Além de diferir de CAC, TOR diferiu de SVS, sendo semelhante às demais populações (Tabela 3).

A meiose é considerada um mecanismo de produção de variabilidade genética que os organismos possuem para se adaptar ao meio ambiente em que vivem e, dessa forma, garantir sua perpetuação através da descendência. Alterações podem ocorrer em diferentes estágios da meiose, uma vez que já foram identificados genes atuando tanto na primeira como na segunda divisão meiótica (Golubovskaya, 1979). O comportamento meiótico é considerado regular quando as células apresentarem os cromossomos pareados na forma de bivalentes em diacinese, não apresentarem cromossomos retardatários em número significativo nas anáfases e telófases e as tétrades não possuírem micronúcleos (Wilms *et al.*,1970). É durante a meiose que ocorre a

recombinação dos genes, de fundamental importância na adaptação das populações ao meio ambiente (Nassar & Freitas 1997).

A alta porcentagem de tétrades normais (Figura 1D) refletiu um índice meiótico (IM) com amplitude de variação contido entre o maior percentual na SVS (94,47%) e o menor registrado na população de TOR (88,74%). As anormalidades encontradas, na formação de tétrades, foram, na maioria células, em tríades e díades. Houveram diferenças significativas entre SVS e TOR. SVS deferiu também de UFSM e EPA. TOR foi semelhante a UFSM, AGE, RBC, FAF e EPA Tabela 3. Segundo Love (1949), a estabilidade meiótica é projetada pelo índice meiótico dando uma estimativa da viabilidade gamética destas plantas.

Portanto, embora pequenas, as diferenças sugerem variabilidade genética que pode estar relacionada as suas diferentes estratégias de adaptação ao meio onde elas ocorrem.

O IM é um parâmetro que tem sido levado em consideração em estudos do comportamento meiótico das plantas nativas. Vários exemplos podem ser citados. Em plantas medicinais, para cinco espécies da família Urticaceae procedentes do Rio Grande do Sul, Karsburg (2002), estimou um IM acima de 80%, as quais foram consideradas normais, exceto duas populações de *Urera baccifera* que apresentaram o IM abaixo de 80%. Para *Syzygium cumini* (Myrtaceae) foi encontrado IM acima de 90% para nove acessos (Loguercio, 2003). Em espécies nativas com fins forrageiros, existem um número significativo de trabalhos com IM. Entre eles destacamos espécies de *Adesmia* (Tedesco, 2000) e *Macroptilium* (Garcia & Battistin, 2002) com IM acima de 90%. Estes valores corroboram com os encontrados na espécie *Baccharis trimera*, sugerindo alta porcentagem de células viáveis na microsporogênese destas espécies.

TABELA 3 – Análise da microsporogênese em oito populações naturais de *Baccharis trimera*, procedentes do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

Populações	Meiose I				Meiose II					
	Associação Diacinese Metáfase I		Disjunção Anáfase I/ Telófase I		Metáfase II		Disjunção Anáfase II/ Telófase II		Tétrades	
	N**	%	N	%	N	%	N	%	N	IM
01 - UFSM*	135	88,89d	120	90,00de	153	90,19abc	176	91,47bc	1063	89,84bc
02 - AGE	152	94,08abcd	138	92,75abc	132	92,42abc	156	91,02abc	1185	90,46bc
03 - RBC	174	89,66cd	114	90,35cd	131	90,10bc	173	94,21abc	1042	90,40bc
04 - SVS	212	96,70ab	216	92,12bcd	145	97,24 a	207	95,65ab	980	94,47 a
05 - TOR	196	90,31bcd	112	87,50e	129	86,04c	126	88,90c	995	88,74c
06 - FAF	208	94,33abcd	177	97,10a	102	94,12abc	117	93,16abc	964	89,73bc
07 - CAC	217	95,85abc	163	96,31ab	123	95,12ab	151	96,68a	1056	92,05ab
08 - EPA	263	97,34a	147	96,60ab	164	94,51abc	171	90,64bc	988	91,40bc

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: Fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: EPAGRI Caçador; ** Número de células analisadas; %: percentual de normalidade. Letras na coluna correspondem as diferenças significativas pelo Teste do χ^2 com $\alpha = 0,01$.

3.3. Viabilidade do pólen

Na Tabela 4 encontram-se os resultados da comparação das estimativas da viabilidade do pólen com três diferentes corantes para as oito populações. Em todas as populações, ocorreram diferenças significativas dentro de cada população, entre os três corantes testados. Observou-se, pela análise dos resultados, que o corante orceína acética 2% foi o que apresentou maior porcentagem de viabilidade para todas as populações, enquanto que o corante reativo de alexander foi aquele que apresentou a menor porcentagem de viabilidade.

Na população UFSM, quando os grãos de pólen foram corados com orceína acética e carmim propiônico, as porcentagens de viabilidade não apresentaram diferenças significativas entre si, porém quando coradas com reativo de alexander as mesmas diferiram. O mesmo

ocorreu com as populações de AGE, RBC, SVS e EPA. Nas populações de TOR, FAF, e ECA, os três corantes apresentaram diferenças estatísticas entre si (Tabela 4).

Na comparação entre as populações, dentro de cada corante, não houveram diferenças significativas entre as oito populações para o coranteorceína acética. Para o corante Carmim propiônico, ocorreram diferenças entre as populações. AGE diferiu de TOR, UFSM, COR, e SVS, sendo semelhante a FAF, CAC e EPA. O Corante reativo de alexander foi o que apresentou maiores diferenças entre as populações (Tabela 4).

No presente trabalho, a viabilidade polínica foi considerada alta acima de 85%, evidenciando-se diferenças significativas entre as populações analisadas.

Alta porcentagem de viabilidade do pólen, semelhante a encontrada em carqueja, também foi observada em espécies nativas com características medicinais. Em cinco espécies da família Urticaceae (urtigas), procedentes do Rio Grande do Sul, Karsburg (2002), encontrou acima de 87% de pólen viável. *Passiflora edulis* (maracujá) apresentou um valor médio superior a 80% (Souza *et al.*, 2002); em *Syzygium cumini* (Jambolom) da família Myrtaceae o percentual foi acima de 93,19% (Loguercio, 2003). Entre outros gêneros de plantas nativas, de modo geral nas leguminosas, com características forrageiras destacam-se: Gênero *Leucaena*, variando de 71 a 98% (Boff, 2002). Em 17 espécies do gênero *Adesmia*, a viabilidade do pólen apresentou-se acima de 90% para a maioria dos os acessos estudados (Tedesco, 2000). Nos gêneros *Eriosema* e *Rhynchosia*, também nativas na Região Sul, foi encontrada uma porcentagem de viabilidade do pólen superior a 94%, demonstrando alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos, com exceção de *E. glabrum*, que apresentou alta inviabilidade do pólen, 14 a 27% (Biondo & Battistin, 2001).

Na comparação entre os três corantes, constatamos que o coranteorceína acética superestimou a viabilidade, pois cora polens viáveis e inviáveis com a mesma intensidade (Figura 1E). Nos polens corados com carmim propiônico, os considerados viáveis mostraram uma coloração mais intensa e os inviáveis uma cor mais fraca. Como não existe outro parâmetro comparativo, às vezes a distinção entre viáveis e inviáveis torna-se duvidosa (Figuras 1F, 1G). O corante reativo de alexander é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen na carqueja, pois permitiu distinguir com mais segurança pólen viável do inviável. O viável apresenta parede celulósica de cor verde, pelo fato de ter afinidade com a corante verde-malaquita, que em reação química cora a celulose e hemicelulose presentes na parede da célula. O protoplasma celular do pólen reage quimicamente com a fucsina ácida dando cor púrpura (Figura 1H). O pólen inviável apresenta a parede celulósica verde e o protoplasma, mal distribuído, pouco corado e não raramente ausente (Figura 1I).

TABELA 4 - Comparação das estimativas (%) da viabilidade do pólen entre corantes dentro de cada população e entre populações dentro de cada corante, em oito populações de *Baccharis trimera*, provenientes de Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Populações	Orceína acética 2%		Carmim propiônico 2%		Reativo de Alexander	
	N**	% viabilidade	N	% viabilidade	N	% viabilidade
UFSM*	2891	98,65 a A	2821	97,13 a BC	2799	90,10 b DE
AGE	2459	98,74 a A	2536	98,15 a A	2408	91,57 c DE
RBC	2434	97,99 a A	2428	96,91 a BC	2740	91,69 b BCD
SVS	2649	98,75 a A	2376	96,80 a BC	2907	93,36 b A
TOR	2625	98,02 a A	2226	96,74 b C	2620	88,90 c E
FAF	2705	98,41 a A	2700	97,63 b ABC	2895	90,57 c CD
CAC	2442	98,85 a A	2487	97,99 b AB	2827	92,71 c CDE
EPA	2758	97,64 a A	2489	97,23 a ABC	2420	92,31 b BC

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: Fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: EPAGRI Caçador; **Número de polens viáveis; % percentual de viabilidade; Letras (minúsculas) diferentes nas linhas correspondem as diferenças dentro da população, entre corantes. Letras (maiúsculas) diferentes nas colunas correspondem as diferenças entre as populações dentro de cada corante. pelo Teste do χ^2 com $\alpha = 0,01$.

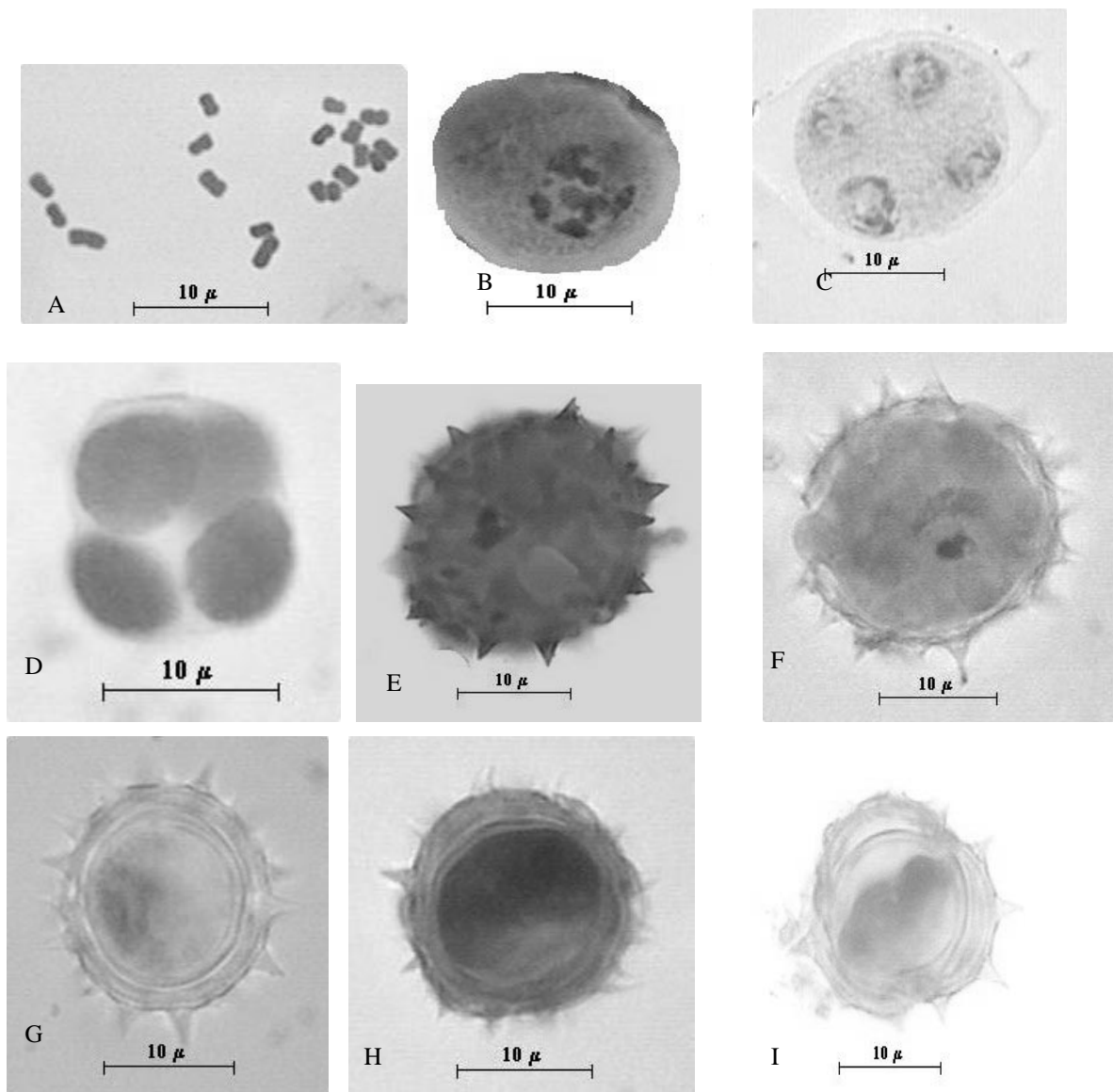


FIGURA 1 – *Bacharis trimera* (Less) DC. : A) metáfase mitótica $2n=2X=18$ cromossomos; B) diacinese (9II); C) telófase II normal; D) tétrade normal; E) pólen corado com orceína acética; F) pólen normal corado com carmim propiônico; G) pólen anormal corado com carmim propiônico; H) pólen normal corado com reativo de alexander; I) pólen anormal corado com reativo de alexander.

A taxa de viabilidade polínica é um fator importante para o melhoramento, conservação e cultivo de plantas, pois em espécies alógamas, como a carqueja, o fluxo gênico através do pólen aumenta a possibilidade de formação de diferentes combinações entre alelos e, em última análise, de variabilidade genética.

As diferenças significativas, encontradas para as fases no processo de microsporogênese entre as populações, bem como para a viabilidade do pólen, revelam a ocorrência de variabilidade genética entre e dentro das mesmas, característico com sua forma de reprodução e fluxo gênico: dioicidade, fecundação cruzada, polinização por abelhas, dispersão de sementes pelo vento, condições edafo-climáticas e os diferentes biomas em que elas ocorrem. Estes aspectos devem ser levados em consideração na determinação de estratégias de cultivo e de conservação genética desta espécie.

No contexto da variabilidade genética de plantas medicinais Scheffer *et al.* (2004) ressaltaram a importância da variabilidade interespecífica e intraespecífica, em especial das espécies nativas. Segundo os autores, a variabilidade existente é o resultado da pressão ambiental nos diversos biomas, produzindo características que são muito importantes nos trabalhos de conservação. Deve-se considerar que o status da variabilidade genética das plantas medicinais resulta na necessidade de se estabelecer diferentes estratégias de manejo e de conservação. Ainda, a existência de diferentes tipos de compostos ativos produzidos, por estas plantas, podem resultar em usos diferenciados e conseqüente diferença de estratégias.

4. CONCLUSÕES

As oito populações avaliadas de *Baccharis trimera* (Less) DC. são diplóides com $2n=2x=18$ cromossomos.

Nas oito populações de *Baccharis trimera* (Less) DC. tanto na meiose I quanto na meiose II, a porcentagem de células normais, índice meiótico e viabilidade do pólen foram acima de 85%. Estes dados confirmam que as populações possuem uma microsporogênese normal, no processo evolutivo da espécie, não ocorrendo problemas quando da sua introdução em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes.

O corante mais indicado para a estimativa da viabilidade do pólen, na espécie *Baccharis trimera* (Less) DC. é o reativo de alexander.

As diferenças significativas, encontradas para as fases no processo de microsporogênese entre as populações, bem como para a viabilidade do pólen, revelam a ocorrência de variabilidade genética entre e dentro das mesmas. Este aspecto deve ser levado em consideração na determinação de estratégias de cultivo e conservação genética desta espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology** v.5 , n.1, p. 13-18, 1980.

ARROYO, M. T. K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M. & RAVEN, P. H. (eds).) **Advances in legumes Systematics** v. 2, p. 723 – 769, 1981.

BALBACH, A. **A Flora Nacional na Medicina Doméstica**. 11^a edição. Edições “A Edificação do Lar”. São Paulo. 1963. 230p.

BATTISTIN, A. **Técnicas para Mitose e Meiose em Vegetais**: Universidade Federal de Santa Maria, setembro de 2000. 11p. Notas de aula. Digitado em Microsoft Word for Windows 97.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) e *Rhynchosia* LOUR (Leguminosae-Faboideae), nativas na região sul do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v. 15, n.1, p. 39-44, 2001.

BOFF, T. Comportamento meiótico e fertilidade do pólen em espécies de *Leucaena* Bentham (Leguminosae/Mimosoidae). **Dissertação (Mestrado/UFRGS)**, Porto Alegre, 2002. 159p.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. p. 205 e 214, 1926.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Civilização Brasileira, 1962. 177 p.

EMATER/RS. **Plantas medicinais mais usadas no Rio Grande do Sul**. Catálogo EMATER/RS 2003.

EMBRAPA/IBAMA. Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas. **Resultados da 1^a reunião técnica**. EMBRAPA/IBAMA, Brasília, 2002.

GARCIA, A.G.; BATTISTIN, A. Microsporogênese de três espécies do gênero *Macroptilium* (BENTH.) URBAN (Leguminosae – Papilionoideae) nativas no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 8, n 1-2, p. 121-129, 2002.

GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara. 1988. 142 p.

GUERRA, M. **Como observar cromossomos**. Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto- São Paulo: FUNPEC- editora. 2002. 131 p.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Genetics control of meiosis. **International Review of Cytology**. 58:247-290, 1979.

GUINET, P. H. **Advances in legume biology** – structure evolution, and biology of pollen in Leguminosae. Missouri Botanical garden, 1989. 842 p.

HANSEL, R **Hagers Handbuch fuer die Pharmazeutische Praxis**. Springer Verlag. p. 795-801, 1992.

KARSBURG, I. V. Citogenética, eletroforese e concentração de proteínas totais em cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul. 2002, 104p. **Dissertação (Mestrado em Agronomia)**- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

LOGUERCIO, A. P. Microsporogênese, eletroforese e atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels oriundo do Rio grande do Sul. 2003, 89p. **(Tese Doutorado em Agronomia)** – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

LOVE, R. A. Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses. **Circular n. 74**. Secretaria da agricultura do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 14p. 1949.

MAFFEI, E.M.D.; MARIN-MORALES,M.A.; RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; MATZENBACHER, N.I. Chromosomal polymorphism in 12 populations of

Mikania micrantha (Compositae). **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 433-444, 1999.

MING L. C. **Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares**. v. 1, p 46, 1998.

MONTANARI Jr. I. **Inventário dos recursos florestais da Mata atlântica: Plantas medicinais**. Exploração, impactos atuais e potencialidades de manejo. CCQBA- UNICAMP. 1999.

NASSAR, N. M. A.; FREITAS, M. Prospects of polyploidizing Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, by unreduced microspores. **Plant Breeding**. V. 116, p. 195-197. 1997.

OLIVEIRA, E. J. ; BATISTA, S. V. G; MALUF, W.R. Cultive carqueja em sua horta. **Boletim Técnico de Hortaliças** N. 027 –Departamento de Agricultura. Lavras – MG, 1ª edição, julho,1999.

PAGLARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and molecular Biology**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 997-1002, 2002.

REIS, M. S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. **In: Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP p.199 – 215, 1996.

S. A. S Institute. **SAS/STAT Guide for personal computers**, Version 6.03. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1996.

SCHEFFER, M.C; MING, L.C.; ARAÚJO, A. J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. 2003.

(www.cpatosa.embrapa.br/livroorg/medicinaisconservação.doc)

12/10/2004.

SINGH, R.J. **Plant cytogenetics**. Boca Raton: CRC Press, 1993. 391 p.

SOUSA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral, antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciênc. Agrotecnica.**, Lavras.v.26, n.6,p.1209-1217, 2002.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. **In:** CURRENT Topics in plant cytogenetics related to plant improvement . Viena: T. Lelley; Universitäts Verlag, 1998. p. 22-33.

TASCHETO, O. M. PAGLIARINI, M. S.; Número de cromossomos em populações de *Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae). In: 46 Congresso Nacional de Genética, 2000, Águas de Lindóia, SP, **Anais...** Águas de Lindóia, 2000, p. 368.

TEDESCO, S.B. Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies Brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae). **Tese (Doutorado/UFRGS)**. Porto Alegre, UFRGS, 2000. 163p.

TORTOSA, R. D. Boletín de la Sociedad argentina de Botánica. **El genero Discaria (Rhamanaceae)**. V. 22 , p. 301-335, Diciembre, 1983.

WILMS, H. J.; CARMICHAEL, J. W; SCHANK, S. C. Cytolical and morphological investigations on the grass *Hemarthria altíssima* (poir) Starpf et C. E. Hubb. **Crop Science**. 10: 309-312, 1970.

CAPÍTULO III

Distribuição da variabilidade genética em carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC] utilizando marcadores alozímicos.

RESUMO: Este trabalho buscou gerar informações relativas à diversidade e estrutura genética em dez populações naturais de *Baccharis trimera* (Asteraceae), bem como caracterizar o sistema de cruzamento em quatro populações naturais da espécie sob diferentes tipos vegetacionais e condições edafo - climáticas, procedentes dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Foram utilizados marcadores alozímicos, revelados a partir de eletroforese em gel de amido (penetrose 30-13%), com tampão eletrodo-gel Tris-citrato para os sistemas enzimáticos ACP, α - EST, β - EST, MDH, PRX, NADHDH e GTDH. Para a caracterização da estrutura genética foram utilizadas as estatísticas F de Wright. O sistema reprodutivo foi caracterizado a partir da avaliação da existência de equilíbrio de panmixia e endogamia, bem como a partir da estimativa da taxa de cruzamento multilocos. As populações estudadas apresentaram índices elevados de diversidade genética ($H_o=0,217$; $H_e=0,215$ e $P=71\%$) para os indivíduos adultos e ($H_o=0,272$, $H_e=0,269$, e $P=80\%$) para as progênies. Os resultados obtidos indicaram ausência de cruzamentos entre aparentados para adultos e para progênies, com $F_{is} = -0,0249$ e $-0,0184$, respectivamente, porém, não significativos e uma baixa divergência genética entre populações para adultos e progênies $F_{ST}=0,032$ e $0,0135$, no entanto, significativa, revelando que a maior parte da variabilidade genética encontra-se distribuída dentro das populações, com excesso de heterozigotos. A espécie é alógama com $T_m=1,05$ e com elevado valor de fluxo gênico ($N_m=7,3$). As populações estudadas estão em equilíbrio de panmixia e endogamia. Estes resultados são coerentes com os mecanismos de polinização e dispersão de sementes na espécie. No estudo, surgiram indicativos de que o tamanho efetivo populacional e o tipo vegetacional são os fatores de maior influência nas diferenças encontradas entre as populações. Os resultados encontrados fornecem referenciais que possibilitam definir estratégias para a conservação de recursos genéticos da espécie.

Palavra Chaves: carqueja, variabilidade genética, isoenzimas

Genetic variability distribution in carqueja [*Baccharis trimeria* (Less) DC] using allozyme markers

ABSTRACT: This study sought to generate information related to the diversity and genetic structure within ten natural populations of *Baccharis trimeria* (Asteraceae), as well as to portray the crossing system within four natural populations of this specie in different vegetations and edafo-climate conditions, come from the states of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Paraná. Allozyme markers were used, revealed from the eletroforese in starch gel (penetrose 30 of 13%), with Tris-citrate gel-electrode tampon for the ACP, α - EST, β - EST, MDH, PRX, NADHDH e GTDH enzymatic systems. For the genetic structure portrayal, F de Wright's statistics were used. The reproductive system was classified from the evaluation of the existence of panmixy and inbreeding equilibrium, as well as from the multiloci rate crossing estimate. The populations studies presented high indexes of genetic diversity ($H_o=0,217$; $H_e=0,215$ and $P=71\%$) for the adults and ($H_o=0,272$, $H_e=0,269$, e $P=80\%$) for the progenies. Results obtained indicated lack of crossing among parentals for adults and for progenies, with $F_{IS} = -0,0249$ and $-0,0184$, respectively, however, meaningless, and a low genetic divergence among populations for adults and progenies $F_{ST}=0,032$ e $0,0135$, on the other hand, meaningful, revealing that mostly of the genetic variability is inside populations, with a surplus of heterozygotes. The specie is allogamic with $T_m=1,05$ and with a high genic flow ($Nm=7,3$). The populations studied are under an equilibrium of panmixy and inbreeding. These results are coherent with the polinization and seed dispersion mechanisms in this specie. There were indicators, in the study, that the effective populational size and the vegetation type are the most influencial factors in the differences found among the populations. The results give referentials that can define strategies for the conservation of genetic resources of this specie.

Key-words: carqueja, genetic variability, allozyme

1. INTRODUÇÃO

Baccharis trimera (Less) DC. é uma Asteraceae de ocorrência natural no Sul do Brasil. É conhecida popularmente como carqueja, carquejinha ou carqueja amarga e por diversas sinonímias no Brasil: *Baccharis genistelloides* var. *trimera*; *B. triptera*; *Cacalia decurrens*; *Coniza genistelloides*; *Molina reticulata*; *M. trimera* (Correa, 1926; Barroso & Bueno, 2002).

A carqueja é uma espécie dióica, propagando-se por meio de sementes com dispersão principalmente pelo vento e vegetativamente a partir de rizomas formando touceiras. No grupo sucessional é classificada como pioneira, ocorrendo em locais de plena incidência solar, podendo ser encontrada desde o nível do mar até altitudes de 2.800 m; em áreas com distúrbios, onde os solos são ácidos, esgotados, bem drenados, pobres em nutrientes e matéria orgânica (Correa, 1926; Hansel, 1992).

Na medicina popular, é usada para combater gripes, febres, problemas intestinais e impotência. Porém, é mais conhecida como um importante medicamento para problemas do fígado (Cruz, 1962; Balbach, 1963), aspecto atribuído, pelo conhecimento popular, ao seu sabor extremamente amargo. Esta espécie faz parte da composição de inúmeros chás emagrecedores à venda em lojas de produtos naturais. É citada, por Correa (1926), como sendo uma planta que substitui o lúpulo para a fabricação de cerveja. Possui, em sua composição, flavonóides, óleos essenciais e terpenos (Hansel, 1992).

As plantas medicinais representam, hoje, grande potencial de recursos farmacológicos, econômicos e sociais. Porém, conforme Reis (1996a), a exploração de plantas de uso medicinal, da flora nativa, através da extração direta do ecossistema, tem levado à redução drástica

das populações naturais destas espécies, seja pelo processo predatório, seja pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação das mesmas. Desse modo, considerando o valor das plantas medicinais, não apenas como recurso terapêutico, mas como fonte de recurso econômico, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo e/ou cultivo, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pela humanidade, aspecto aliado à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais.

Vários autores têm enfatizado a importância da conservação genética de espécies vegetais de forma efetiva. De acordo com Guerra & Reis (1999), a conservação genética eficiente requer o conhecimento da biologia da espécie, da dinâmica e estrutura das populações e um manejo adequado que proporcione para a espécie e ao ecossistema a expressão de seu potencial evolutivo. Para Kageyama (1987), a conservação de recursos genéticos *in situ*, numa forma ideal, considerando-se o caráter de continuidade de evolução das populações em conservação, pressupõe longo prazo, o que tem implicações com a preservação da variabilidade suficiente para as populações, com tamanho de reservas para sua estabilidade e com questões de uso ou potencial para o recurso genético preservado.

Nesse sentido, a caracterização da diversidade genética é imprescindível à escolha de estratégias visando a conservação dessas espécies. Conforme destacam Reis *et al.*, (2002) a avaliação da diversidade genética de populações naturais é um instrumento importante, considerando que permite identificar o fluxo gênico nas populações, consequência direta dos processos de polinização e dispersão de sementes. Este conhecimento permite inferir práticas de manejo que visem à conservação não apenas do indivíduo, mas da diversidade genética da espécie como um todo.

O uso de marcadores alozímicos tem-se mostrado importante ferramenta para quantificar a variabilidade genética em populações naturais, permitindo avaliar a movimentação de alelos, efeitos de deriva genética, sistema reprodutivo e níveis de endogamia (Reis, 1996b). Assim, é possível desenvolver estratégias mais eficientes de conservação de formações vegetais no sentido de usar os recursos genéticos de forma sustentada (Nodari *et al.*, 2002).

Estudos utilizando este marcador vêm contribuindo para fundamentar estas estratégias. Reis (1996) caracterizou a distribuição da variabilidade genética em *Euterpe edulis* em nível geográfico local e regional, no qual foram encontradas divergências genéticas entre as populações estudadas. A análise das freqüências alélicas e de agrupamento indicaram uma adequação ao modelo de isolamento por distância geográfica, reforçado pelo gradiente de altitude como componente básico da distribuição da variabilidade genética encontrada para a espécie.

Auler *et al.* (2002) caracterizou a estrutura genética de nove populações naturais de *Araucaria angustifolia*, no Estado de Santa Catarina, onde foi verificada baixa variabilidade genética entre populações. Neste estudo, os valores dos índices de diversidade foram menores nas populações mais degradadas, indicando que a fragmentação e a degradação vêm contribuindo para a alteração da freqüência e da dinâmica dos alelos nas populações estudadas.

Sebben *et al.* (2000) avaliaram os efeitos de manejo tradicional em *Tabebuia cassinoides* em uma população manejada e uma não manejada. Os resultados revelaram valores elevados de endogamia e baixa divergência entre as populações. Revelaram, também, efeitos negativos sobre a população manejada, como menor quantidade de alelos, menor heterozigidade observada e esperada, menor taxa de cruzamento, entre outros.

Em espécies medicinais, Mariot *et al.* (2002), estudando populações naturais de *Piper cernuum*, encontrou elevada divergência genética entre populações ($F_{ST}=0,380$) e uma menor divergência entre regiões ($F_{ST}=0,062$). Foi encontrado também um excesso de heterozigotos ($F_{IS}=-0,170$). O autor também concluiu que a espécie depende constantemente da formação de clareiras para manutenção do dinamismo populacional, sugerindo o efeito fundador responsável pela estruturação encontrada nas populações estudadas.

Steenbock (2003) estudou duas populações naturais de *Maytenus ilicifolia*. O autor encontrou níveis de diversidade maiores que a média esperada para espécies tropicais. A espécie também apresentou elevados coeficientes de endogamia, gerados por condicionantes do sistema reprodutivo e pela existência de deriva genética.

Estes trabalhos indicam a importância de gerar estudos individuais e a necessidade de estabelecer diferentes estratégias para cada espécie a ser conservada, manejada ou domesticada.

Dessa forma, o conhecimento sobre a estrutura genética, da espécie em foco, proporciona informações relevantes para o desenvolvimento de estratégias apropriadas para o manejo e a conservação da mesma. Neste sentido, o objetivo deste trabalho consistiu em estudar a distribuição da variação genética entre e dentro das populações e determinar a taxa de cruzamento da espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Para atingir os objetivos propostos, foram coletadas amostras foliares de 300 indivíduos adultos reprodutivos, aleatoriamente, em dez populações naturais procedentes dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, sob diferentes gradientes de altitude, tipos vegetacionais e condições edafo-climáticas (Tabelas 1 e 2).

Para as progênies, foram coletadas sementes de dez plantas para quatro populações (UFSM, AGE, RBC e SVS) (Tabela 1). De cada matriz foram genotipadas 10 plantas, totalizando 100 plantas para cada uma das quatro populações. As mesmas foram germinadas em meio de Agar 6%. Após a germinação, foram transferidas para uma estufa com temperatura controlada no Horto Florestal do Departamento de Engenharia Florestal da UFSM (Universidade Federal de Santa Maria). Os locais de coleta estão nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1 – Populações, sigla, locais de coleta e número de indivíduos coletados em dez populações naturais de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.

Populações	Sigla	Município/Estado	N*
1. Campus/UFSM**	UFSM	Santa Maria/RS	30
2. Arroio Grande	AGE	Santa Maria/RS	30
3. Reserva Biológica da CORSAN***	RBC	Val da Serra/RS	30
4. São Vicente do Sul	SVS	São Vicente do Sul/RS	30
5. Torres	TOR	Torres/RS	30
6. Fazenda Amola Faca/EPAGRI****	FAF	Lages/SC	30
7. Caçador	CAC	Caçador/SC	30
8. Caçador/EPAGRI	EPA	Caçador/SC	30
9. Turvo 1	TUR	Turvo/PR	30
10. Turvo 2 (manejada)	TUM	Turvo/PR	30
TOTAL	10		300

* Número de indivíduos amostrados; ** (UFSM) Universidade Federal de Santa Maria; *** (CORSAN) Companhia Rio Grandense de Saneamento e Abastecimento de Água; **** (EPAGRI) Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.

TABELA 2 – Altitude, tipo de solo, cobertura vegetal e histórico das dez populações amostradas de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil

População	Altitude (m)	Solo	Vegetação	História e uso
1. UFSM*	113	Argissolo	Floresta Estacional Decidual	Reflorestamento com pinus e eucaliptos. Área de pastagem
2. AGE	113	Argissolo	Floresta Estacional Decidual	Área de pastagens. Grande número de indivíduos/ indivíduos roçados.
3. RBC	450	Neossolo litólico	Floresta Estacional/ Ombrófila Densa/ Ombrófila Mista	Coleta próximo a reserva. Ambiente sofreu intervenção antrópica para construção do refeitório.
4. SVS	120	Argissolo	Campo (Estepe Estacional)	Pastagem natural/lavoura há cinco anos. Grande número de indivíduos
5. TOR	12	Argissolo arenoso	Floresta Ombrófila Densa.	Poucos indivíduos. Área de pastagens, bastante antropizada
6. FAF	918	Cambissolo	Campos do Planalto	Área de pastagens com gado/ campo natural
7. CAC	950	Nitossolo (avermelhado)	Floresta Ombrófila Mista	Grande número de indivíduos/área de pastagens (antropizada)
8. EPA	950	Nitossolo (avermelhado)	Floresta Ombrófila Mista	Ambiente da reserva/grande número de indivíduos/roçado
9. TUR	1.044	solo argiloso roxo distrófico.	Floresta Ombrófila Mista	Poucos indivíduos/conservadas – desmatamento há dois anos
10. TUM	1.044	solo argiloso roxo distrófico.	Floresta Ombrófila Mista	Poucos indivíduos/com extração da espécie.

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: Fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: EPAGRI Caçador; TUR: Turvo; TUM – Turvo manejada.

2.2. Eletroforese de isoenzimas

Para a caracterização da estrutura genética, foram usados marcadores alozímicos. O meio suporte utilizado para eletroforese foi o gel de amido de milho (penetrose 30 a 13%).

Inicialmente, foi adaptado um protocolo básico com dois diferentes sistemas tampão eletrodo/gel (Tris-Citrato, Citrato Morfolina), e 20 sistemas enzimáticos (Anexo 1), nas diferentes camadas de gel, empregando-se os protocolos descritos por Alfenas *et al.* (1991; 1998) e Kephart (1990), procurando-se obter aproximadamente 10 locos polimórficos ativos em plantas adultas e jovens.

A partir das eletroforeses, foram avaliados: presença ou ausência, intensidade, nitidez, migração das diferentes bandas e condições de corrida, visando o estabelecimento do protocolo. Após a identificação dos sistemas com boa resolução tampão gel/eletrodo utilizado, estes foram submetidos à análise para a observação de polimorfismo (Anexo 2 e 3).

A leitura dos zimogramas foi realizada logo após a revelação das isoenzimas; as bandas foram desenhadas em filme plástico, sendo mantidas as dimensões originais para a mensuração das distâncias de migração. Além disso, os géis foram fotografados para registro dos resultados.

As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) do Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis/SC.

2.3. Análises estatísticas

A diversidade genética foi caracterizada a partir das estimativas das frequências alélicas, heterozigosidade média observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) das populações (Nei, 1973), número

médio de alelos por loco (A), porcentagem de locos polimórficos (P) e índice de fixação de Wright (F).

As freqüências alélicas foram estimadas por: $P_{ij} = n_{ij}/n_j$, onde P_{ij} = freqüência do alelo i na população j ; n_{ij} = número de ocorrências do alelo i na população j ; n_j = número total de alelos amostrados na população j . A heterozigosidade média observada (H_o), para cada loco, foi obtida por $H_o = 1 - \sum P_{ii}$, onde P_{ii} é a freqüência dos genótipos homocigotos ii e heterozigosidade média esperada (H_e) $H_e = 1 - \sum P_i^2$, onde: P_i = freqüência alélica estimada do i ésimo alelo de um loco. A porcentagem de locos polimórficos (P) foi obtida através da média aritmética do número total de alelos pelo número de locos. Considerou-se um loco polimórfico aquele em que a freqüência do alelo mais comum não ultrapassou 95%. O número médio de alelos por loco (A) foi obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos. O índice de fixação de Wright (F) foi estimado como desvios da heterozigosidade esperada: $F = (H_o - H_e)/H_e$.

A distribuição da variabilidade genética, entre e dentro das populações, foi caracterizada pelas estatísticas F de Wright, segundo a metodologia de Nei (1977). Esta estatística admite que todos os desvios de panmixia sejam exclusivamente devido aos efeitos de deriva e do sistema reprodutivo. Estas estatísticas F podem ser obtidas a partir dos conceitos de heterozigosidade observada e esperada, onde: H_o é a heterozigosidade média observada dentro das populações; H_s é a heterozigosidade média esperada segundo Hardy-Weinberg (EHW) nas populações e H_T é a heterozigosidade média esperada segundo EHW para o conjunto das populações. Assim, F_{IS} é definido como: $F_{IS} = H_s - H_o/H_s$, ($-1 \leq F_{IS} \leq 1$), onde F_{IS} é o desvio da proporção de heterozigotos esperado segundo EHW dentro das populações, ou o índice médio de fixação de alelos dentro das populações. Este parâmetro corresponde à média do índice F individual de cada população; $F_{IT} = H_T - H_o/H_T$, ($-1 \leq F_{IT} \leq 1$), onde F_{IT} é o desvio da proporção de heterozigotos observados dentro

das populações do esperado segundo EHW para o conjunto das populações, ou o índice médio de fixação de alelos para o conjunto das populações; $F_{ST} = H_T - H_S / H_T$, ($0 \leq F_{ST} \leq 1$), onde F_{ST} é o desvio da proporção de heterozigotos esperados segundo o EHW do total das populações, da proporção de heterozigotos esperados segundo EHW dentro das populações, sendo também uma medida de divergência genética entre as populações. Os valores médios de F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} foram obtidos pela média ponderada dos locos. Os resultados foram obtidos com o uso do programa Biosys-2 (Swofford & Selander, 1997).

A significância dos três coeficientes (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) foi testada loco a loco empregando-se a estatística χ^2 pela abordagem de LI & HORVITZ (1953) e WORKMAN & NISWANDER (1970): $F_{IS} \Rightarrow \chi^2 = NF_{IS}^2 (k - 1)$; com $GL = [k(k-1)]/2$; $F_{IT} \Rightarrow \chi^2 = 2NF_{IT}^2 (k - 1)$; com $GL = [k(k-1)]/2$; $F_{ST} \Rightarrow \chi^2 = 2NF_{ST}^2 (k - 1)$; com $GL = (n - 1)(k-1)$.

Para testar a significância dos valores médios dos locos foi empregado o somatório dos χ^2 dos locos e o somatório dos graus de liberdade (GL) dos locos (WORKMAN & NISWANDER, 1970).

2.4 Sistema reprodutivo

Para a caracterização do sistema reprodutivo, inicialmente, foi testada a aderência das freqüências genotípicas ao equilíbrio de panmixia e endogamia e, posteriormente, estimada a taxa multiloco de cruzamento.

A aderência ao equilíbrio de panmixia foi testada comparando-se as freqüências genotípicas observadas e esperadas, conforme a extensão do teorema de Hardy-Weinberg para o número correspondente de alelos para cada loco e agrupando-se os genótipos em classes: homozigoto para o alelo mais freqüente; heterozigoto entre o alelo mais freqüente e os demais; e todos os demais genótipos. O teste de aderência ao equilíbrio de endogamia (equilíbrio de Wright) foi realizado também se comparando as freqüências genotípicas observadas e esperadas, estabelecendo-se, contudo, os valores esperados a partir de uma extensão do teorema de

Hardy-Weinberg que agrega o índice de fixação (F) (Wright, 1951). Neste caso, o χ^2 é testado com um grau de liberdade a menos, portanto, só pode ser empregado quando há três alelos ou mais por loco.

As taxas de cruzamento unilocos (t_s) e multiloco (t_m) foram estimadas para as populações pelo programa MLTR de Ritland (1997), baseado no modelo de cruzamento misto de Ritland & Jain (1981). O modelo assume que as plântulas resultam de uma mistura de cruzamentos aleatórios e autofecundação, cujas pressuposições básicas são: (1) que o conjunto de pólen é homogêneo para os cruzamentos com todos os genótipos maternos; (2) que os alelos de diferentes locos segregam independentemente e (3) que os locos não são afetados pela seleção ou mutação entre o evento reprodutivo e a análise (Ritland e Jain, 1981; Ritland, 1990). Para estimar o erro padrão da taxa de cruzamento unilocos e multilocos, para a população, o programa utilizou o método bootstrap, onde a unidade de amostragem foram plantas dentro de famílias. Utilizaram-se 1000 reamostragens dentro de famílias, com base em Ritland (1997). O teste de homogeneidade das frequências alélicas do pólen e óvulos foi realizado através da estimativa de F_{ST} de Wright (1965). A significância de F_{ST} foi dada pelo teste de χ^2 (Workman e Niswander, 1970), conforme já descrito, anteriormente, para a análise estatística F.

O fluxo gênico aparente foi estimado a partir da relação proposta por Wright (1951), entre a quantidade de migrantes (Nm) e a divergência entre populações (F_{ST}), pela fórmula $F_{ST} = 1/(1 + 4Nm)$. Adicionalmente, foi feita a estimativa de vizinhança (Nb - número de indivíduos numa área de vizinhança ou área onde ocorre panmixia, conforme Wright, 1931), como sugerem Slatkin & Barton (1989), pela fórmula $Nb = 2 \Pi Nm$.

3. RESULTADOS

A análise de eletroforese de isoenzimas permitiu a obtenção de 30 locos, distribuídos em 20 sistemas isoenzimáticos (Auler, 2003). Levando-se em consideração o critério de boa resolução e infra-estrutura disponível, foram selecionados sete sistemas enzimáticos: ACP, α EST, β - EST, MDH, PRX, NADHDH e GTDH. Estes sistemas exibiram um total de dez locos para adultos e oito para progênies, passíveis de interpretação, segundo os princípios da segregação mendeliana. Os mesmos apresentaram-se polimórficos (critério 95% para o alelo mais comum, Tabela 3).

TABELA 3 - Sistemas enzimáticos utilizados em indivíduos adultos de populações naturais de *Baccharis trimera*, bem como em suas progênies maternas, número de locos observados com possibilidade de interpretação genética (tampão utilizado: Tris- Citrato).

Sistemas enzimáticos	Número de locos: Adultos	Estrutura da enzima	Número de locos: Progênies	Estrutura da enzima
ACP	2	Monomérica	2	Monomérica
α - EST	1	Monomérica	1	Monomérica
β - EST	1	Monomérica	1	Monomérica
MDH	2	Dimérica	2	Dimérica
PRX	2	Monomérica	1	Monomérica
NADHDH	1	Monomérica	1	Monomérica
GTDH	1	Monomérica	-	Monomérica
Total	10		08	

A enzima ACP apresentou dois locos. ACP-1 foi monomórfico apenas para a população de indivíduos adultos da UFSM. O loco ACP-2 foi polimórfico para todas as populações. A enzima apresentou-se monomérica para ambos os locos (Tabela 4). Para α -EST e β - EST foi observado um loco para cada sistema, ambos polimórficos para todas as populações, com enzima monomérica de boa resolução, tanto para os adultos como para as progênies (Tabelas 4 e 5). A enzima MDH apresentou três locos, sendo que foram considerados somente os dois de melhor resolução. MDH-1 foi polimórfico para todas as populações, tanto para adultos, como para as progênies maternas, enquanto que MDH-2 foi

polimórfico para três populações de progênies e quatro populações de indivíduos adultos. A enzima peroxidase (PRX) apresentou dois locos de boa resolução para indivíduos adultos (PRX-1 e PRX-2) e um para indivíduos das progênies (PRX-1). Os dois foram polimórficos para todas as populações de indivíduos adultos e PRX -1 foi polimórfico para três populações de progênies, com enzima monomérica. As enzimas NADHDH e GTDH apresentaram somente um loco cada, com boa resolução. A NADHDH foi polimórfica para a maioria das populações de indivíduos adultos e para todas as populações das progênies maternas. O sistema GTDH só foi detectado para populações de indivíduos adultos, sendo polimórfico apenas para AGE e SVS, com dois alelos (Tabelas 4 e 5).

3.1. Freqüências alélicas

As freqüências alélicas, para as dez populações de adultos e quatro populações de progênies maternas, de *Baccharis trimera*, são apresentadas nas Tabelas 4 e 5, respectivamente. Nas progênies maternas, não foram revelados os locos PRX-2 e GTDH, por apresentarem baixa resolução neste grupo de plantas.

TABELA 4 – Freqüências alélicas para dez locos isoenzimáticos a partir de indivíduos adultos de dez populações de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.

Populações/Número de indivíduos											
Loco	Alelo	UFSM	AGE	RBC	SVS	TOR	FAF	CAC	EPA	TUR	TUM
		*									
	N**	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
ACP-1	1	1000	0,867	0,850	0,717	0,917	0,883	0,967	0,900	0,933	0,950
	2	0,000	0,133	0,150	0,283	0,083	0,117	0,033	0,100	0,067	0,050
ACP-2	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,783	0,800	0,767	0,800	0,800	0,867	0,900	0,733	0,917	0,900
	2	0,183	0,200	0,217	0,167	0,200	0,067	0,050	0,217	0,083	0,100
α -EST	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,667	0,650	0,700	0,600	0,683	0,633	0,600	0,817	0,633	0,650
	2	0,333	0,350	0,300	0,333	0,317	0,333	0,383	0,183	0,367	0,350
β – EST	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,767	0,783	0,733	0,750	0,750	0,717	0,600	0,733	0,700	0,650
	2	0,183	0,217	0,200	0,217	0,250	0,267	0,350	0,183	0,300	0,350
MDH-1	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	783	0,800	0,783	0,667	0,833	0,817	0,867	0,883	0,867	0,967
	2	0,217	0,200	0,217	0,267	0,117	0,183	0,133	0,117	0,133	0,033
MDH-2	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,867	1,000	0,950	0,983	1000	1000	1000	1000	1000	0,983
	2	0,133	0,000	0,050	0,017	0,000	0000	0,000	0,000	0,000	0,017
PRX -1	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,933	0,950	0,983	0,917	0,967	0,933	0,950	0,850	0,983	0,917
	2	0,067	0,050	0,017	0,083	0,033	0,067	0,050	0,150	0,017	0,083
PRX-2	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,917	0,900	0,767	0,917	0,933	0,850	0,950	0,783	0,950	0,917
	2	0,050	0,100	0,200	0,083	0,050	0,100	0,050	0,217	0,050	0,083
NADHDH	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	0,950	1000	0,933	0,883	1000	0,750	0,900	0,933	0,967	0,933
	2	0,050	0000	0,067	0,067	0000	0,250	0,100	0,050	0,033	0,067
GTDH	N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	1	1000	0,900	1000	0,867	1000	1000	1000	1000	1000	10000
	2	0,000	0,100	0,000	0,133	0,000	0,000	0,000	0,000	0000	,000
Total/ alelos	26										

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: EPAGRI Caçador; TUR: Turvo; TUM – Turvo manejada. ** Número de indivíduos amostrados.

TABELA 5 - Frequências alélicas para oito locos isoenzimáticos a partir de quatro populações para progênes maternas de *Baccharis trimera* no Sul do Brasil.

Populações/Número de indivíduos					
Locos	Alelos	UFSM*	AGE	SVS	RBC
	N**	99	98	99	99
ACP-1	1	0,899	0,888	0,869	0,934
	2	0,101	0,112	0,091	0,066
	3	0,000	0,000	0,040	0,000
	N	97	100	100	100
ACP-2	1	0,747	0,815	0,720	0,850
	2	0,160	0,170	0,220	0,150
	3	0,093	0,015	0,060	0,000
	N	100	100	100	100
α - EST-1	1	0,720	0,670	0,575	0,680
	2	0,280	0,330	0,380	0,320
	3	0,000	0,000	0,045	0,000
	N	100	100	99	100
β - EST-2	1	0,615	0,620	0,596	0,670
	2	0,350	0,315	0,369	0,305
	3	0,035	0,065	0,035	0,025
	N	95	100	100	99
MDH-1	1	0,832	0,880	0,670	0,884
	2	0,168	0,120	0,245	0,016
	3	0,000	0,000	0,085	0,000
	N	100	100	100	100
MDH-2	1	0,950	0,980	0,980	1000
	2	0,030	0,020	0,020	0,000
	3	0,020	0,000	0,000	0,000
	N	99	100	100	100
PRX-1	1	0,904	0,875	0,875	1000
	2	0,076	0,125	0,100	0,000
	3	0,020	0,000	0,025	0,000
	N	95	99	99	100
NADHDH-1	1	0,963	0,955	0,848	0,980
	2	0,037	0,045	0,121	0,020
	3	0,000	0,000	0,030	0,000
Total/alelos	24				

* UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul.

O loco ACP-1 apresentou dois alelos para nove das populações de adultos e para todas as populações das progênes maternas. O alelo 2 sempre apresentou frequência reduzida para as mesmas. O loco também apresentou o alelo 3 na população SVS das progênes maternas não detectado para as populações de adultos.

O loco ACP-2 apresentou três alelos para as populações de UFSM, RBC, SVS, FAF, CAC e EPA. Nas demais populações, o loco revelou dois alelos com frequências variadas. Para as progênes, o alelo 3 foi

detectado para UFSM, AGE E SVS. As Progênies da população de RBC apresentaram dois alelos.

O loco α - EST apresentou três alelos para as populações de SVS, FAF e CAC de indivíduos adultos e SVS para as progênies maternas. As demais apresentaram somente dois alelos.

O loco β - EST apresentou três alelos para a maioria das populações (UFSM, RBC, SVS, FAF, CAC e EPA) de adultos e para todas as populações das progênies maternas. Para as demais, foi verificada a presença de dois alelos.

Nas populações de progênies maternas, o loco MDH-1 apresentou três alelos para a população de SVS e dois alelos para as demais. Para as populações de adultos, o loco apresentou três alelos para as populações de SVS e TOR, sendo que as demais, apresentaram dois alelos.

No loco MDH-2, o alelo três somente foi verificado na população de UFSM para as progênies maternas, não sendo verificado para as populações de indivíduos adultos. O alelo 2 foi verificado para UFSM, AGE e SVS para as progênies maternas e UFSM, RBC, SVS e TUM para os adultos. As demais apresentaram somente um alelo.

Para o loco PRX-1, foram observados dois alelos para todas as populações de adultos e um terceiro alelo para as populações UFSM e SVS para as progênies maternas.

O loco PRX-2 só foi verificado nas populações de indivíduos adultos com três alelos para UFSM, RBC, TOR e FAF. O alelo 2 foi verificado para todas as populações.

As populações SVS e EPA de indivíduos adultos apresentaram três alelos para o loco NADHDH. O alelo 2 não está presente nas populações de AGE e TOR. Para as progênies maternas, somente a população de SVS apresentou o alelo 3. Nas demais, foi verificada a presença de dois alelos.

O loco GTDH só foi verificado para as populações de adultos com dois alelos para AGE e SVS. As demais apresentaram somente um alelo.

3.2. Índices de diversidade genética

A partir das frequências alélicas foram estimados índices de diversidade genética: heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), número médio de alelos por locos (A), porcentagem de locos polimórficos (P) e índice de fixação de Wright (F), considerando-se indivíduos adultos e progênies maternas, os quais são apresentados nas Tabelas 6 e 7.

TABELA 6 – Índices de diversidade genética para dez populações naturais de *Baccharis trimera* procedentes do Sul do Brasil, obtidos a partir de dez locos em 300 indivíduos adultos.

Populações*	A	P**	H_o	H_e ***	F
UFSM	2,1	80	0,213 (0,052)	0,215 (0,052)	0,009
AGE	2,2	70	0,253 (0,044)	0,246 (0,048)	- 0,027
RBC	1,8	80	0,197 (0,056)	0,216 (0,053)	0,088
SVS	2,5	90	0,313 (0,056)	0,296 (0,051)	-0,057
TOR	1,9	60	0,177 (0,051)	0,179 (0,053)	0,011
FAF	2,2	80	0,250 (0,062)	0,245 (0,053)	-0,020
CAC	2,1	50	0,207 (0,070)	0,189 (0,059)	- 0,095
EPA	2,1	70	0,227 (0,052)	0,228 (0,049)	0,004
TUR	1,8	60	0,157 (0,057)	0,161 (0,053)	0,024
TUM	1,9	70	0,173 (0,048)	0,174 (0,051)	0,006
MÉDIA	2,1	71	0,217	0,215	-0,057

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da Corsan; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: Epagri Caçador; TUR: Turvo; TUM – Turvo manejada.; ** Critério 95%; ***estimativa não viesada de Nei, (1978).

O número médio de alelos (A) por loco variou de 1,8 à 2,5 e a média geral de locos polimórficos (P) foi de 71% (critério 95% para o alelo

mais freqüente) nas dez populações de indivíduos adultos. A heterozigidade média esperada (H_e) foi de 0,215, sendo o menor índice registrado para a população de TUR (0,161) e o maior para a população de SVS (0,296). A heterozigidade observada (H_o) foi superior à esperada com média de 0,217. Os índices de fixação alélica de Wright (F) mostraram valores negativos para as populações de AGE, SVS, FAF, CAC, sugerindo excesso de heterozigotos nestas populações (Tabela 6). Valores positivos de F, porém, baixos, foram observados nas demais populações, indicando a existência de endogamia em níveis reduzidos.

TABELA 7 – Índices de diversidade genética para quatro populações de *Baccharis trimera* procedentes do Rio Grande do Sul, obtidos a partir de oito locos em progênies.

Populações*	N	A	P**	H_o	H_e ***	F
UFSM	98,1	2,5	87,50	0,264 (0,057)	0,266 (0,056)	0,0075
AGE	99,6	2,3	75,00	0,254 (0,062)	0,253 (0,058)	-0,0039
SVS	99,6	2,9	87,50	0,349 (0,062)	0,340 (0,062)	-0,0264
RBC	99,8	2,0	75,00	0,223 (0,059)	0,217 (0,059)	-0,0276
MÉDIA	99,30	2,4	81,25	0,272	0,269	-0,022
MÉDIA/ ADULTOS (UFSM, AGE ,RBC e SVS)		2,1	80	0,244	0,243	0,013

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da Corsan; SVS: São Vicente do Sul; ** Critério 95%; ***estimativa não viesada de Nei, (1978).

Para as progênies maternas, o número médio de alelos por loco (A) variou de 2,0 a 2,9 com uma média de 2,4. A média de locos polimórficos (P) foi de 80%. Também nas progênies maternas a heterozigidade observada (H_o) foi superior à esperada (H_e), como ocorreu nos adultos (0,272 e 0,269). O índice de fixação foi negativo para os indivíduos das progênies maternas, sugerindo excesso de heterozigotos para estas populações. O mesmo não aconteceu para as quatro populações de adultos, onde a média de F apresentou-se, embora reduzido, positivo (0,013), sugerindo valores reduzidos de endogamia (Tabela 7).

3.3. Estrutura genética das populações avaliadas

Nas Tabelas 8 e 9 são apresentados, respectivamente, os valores da estatística F (Wright, 1951 e 1965) para as populações de indivíduos adultos e para as populações de progênies maternas de *Baccharis trimera*, por loco.

TABELA 8 - Estimativa das estatísticas F de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) para indivíduos adultos de dez populações naturais de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil.

Loco	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
ACP-1	0,0087 ns	0,0693 ns	0,0611**
ACP-2	-0,0496 ns	-0,0204 ns	0,0278*
EST-1	0,0019 ns	0,0166 ns	0,0148ns
EST-2	-0,0264 ns	-0,0085 ns	0,0174ns
MDH-1	-0,0236 ns	0,0127 ns	0,0355**
MDH-2	0,0638 ns	0,1351 **	0,0761**
PRX-1	-0,0330 ns	-0,0081 *	0,0241ns
PRX-2	-0,0172 ns	0,0216 ns	0,0382**
NADHDH-1	-0,1007 ns	-0,263 **	0,0676**
GTDH-1	-0,1351 *	-0,0239 ns	0,0980**
Média	-0,0249 ns	0,0086**	0,0326**

ns: não significativa; * significativa 5%; ** significativa a 1% pelo teste do χ^2 .

TABELA 9 - Estimativa das estatísticas F de Wright para progênies de quatro populações naturais de *Baccharis trimera* de ocorrência natural no Sul do Brasil.

Loco	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
ACP-1	-0,0552ns	-0,0486ns	0,0063 ns
ACP-2	0,0189ns	0,0321ns	0,0135 **
EST-1	-0,0701ns	-0,0506ns	-0,098*
EST-1	-0,0100ns	-0,0067ns	-0,0033ns
MDH-1	0,0811ns	0,1163**	0,0383**
MDH-2	0,0836ns	0,0943*	0,116**
PRX-1	-0,1225**	-0,1190**	0,0031ns
NADHDH-1	-0,0124ns	0,0245ns	0,0365**
Média	-0,0184 ns	-0,0046**	0,0135 **
Média ***UFSM, AGE, SVS e RBC (Adultos)	-0,0203ns	0,0017**	0,0215**

ns: não significativa; * significativa 5%; ** significativa a 1% pelo teste do χ^2 ; ***UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul.

Os valores de F_{IS} obtidos (Tabela 8) foram negativos e corroboram com os encontrados na Tabela 6, onde foi observado que valores baixos ou ausência de endogamia ocorrem entre e dentro das populações de

progênies maternas e dentro das populações de indivíduos adultos. Contudo, não foram significativamente diferentes de zero.

Entre os indivíduos adultos somente os locos ACP-1, α - EST e MDH-2 apresentaram valores positivos.

Analisando-se os dados da Tabela 8, pelo valor do F_{ST} , verifica-se que a maior parte da variabilidade genética está dentro das populações e que entre as populações há poucas diferenças (0,0326), contudo, significativa, indicando divergências possivelmente associadas com a presença de alelos raros ou exclusivos. O mesmo aconteceu em relação às progênies, este valor é bastante reduzido (0,0135), embora também se apresente significativo (Tabela 9).

3.4. Sistema reprodutivo

3.4.1. Aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e endogamia de Wright.

Os resultados do teste de aderência, das populações naturais de *Baccharis trimera*, avaliadas neste estudo ao equilíbrio de panmixia e endogamia para os indivíduos adultos e progênies estão nas Tabelas 10 e 11.

TABELA 10 - Resumo do teste de Qui-quadrado (χ^2) para os desvios do equilíbrio de Hardy- Weinberg, considerando as frequências observadas e esperadas não agrupados e agrupados e equilíbrio de endogamia das dez populações de indivíduos adultos de *Baccharis trimera* procedentes do Sul do Brasil.

População	GL	χ^2	P	GLp**	χ^2p^{**}	Pp**	F(p)***
UFSM*	14	4,012	> 95	3	1,071	70-80	50-30
RBC	8	20,685	< 1	-	-	-	-
AGE	15	4,521	>95	3	1,678	70-50	-
SVS	20	10,125	>95	5	5,346	50-30	50-30
TOR	11	4,53	>90	2	0,201	>90	50-30
FAF	16	19,912	30-20	4	8,278	>5	70-50
CAD	14	7,189	>90	3	4,120	30-20	50-30
EPA	14	9,99	70-80	3	1,288	80-70	50-30
TUR	8	1,885	>98	-	-	-	-
TUM	9	1,283	>95	-	-	-	-

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; TOR: Torres; FAF: fazenda Amola Faca; CAC: Caçador; EPA: EPAGRI Caçador; TUR: Turvo; TUM – Turvo manejada; **Alelos agrupados: número de homocigoto para alelo mais comum, número de heterocigoto entre alelos comuns/raro, número de homocigotos raros e outros heterocigotos; ***Coeficiente de endogamia.

TABELA 11- Resumo do teste de Qui-quadrado (χ^2) para os desvios do equilíbrio de Hardy- Weinberg, considerando as frequências observadas e esperadas não agrupados e agrupados e equilíbrio de endogamia em quatro populações de progênies maternas de *Baccharis trimera*.

População	GL	χ^2	P	GLp**	χ^2p^{**}	Pp**	F(p)***
UFSM*	16	32,786	<1	4	5,979	20-30	50-30
RBC	9	31,818	<1	1	0,002	>95	20-10
AGE	12	27,72	<1	2	2,168	50-30	50-30
SVS	22	51,982	<1	7	15,427	10-5	50-30

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE- Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul; **Alelos agrupados: número de homocigoto para alelo mais comum, número de heterocigoto entre alelos comuns/raro, número de homocigotos raros e outros heterocigotos; *** Coeficiente de endogamia.

O teste da existência de equilíbrio de panmixia (equilíbrio de Hardy-Weinberg), realizado para os adultos, sugere que todas as populações de indivíduos adultos estão em equilíbrio de panmixia, exceto a população RBC. O agrupamento de classes para alelos menos frequentes produziu frequências que também aderiram ao equilíbrio. O mesmo não aconteceu com as progênies, pois todas apresentaram desvios a este equilíbrio, porém, isso não aconteceu quando os alelos foram agrupados por classes, onde todas as populações aderiram ao equilíbrio de panmixia. Nas populações com grau de liberdade suficiente, foi avaliado o equilíbrio

de endogamia. Todas as populações analisadas tanto para os adultos, bem como as progênies, estão em equilíbrio de endogamia (Tabelas 10 e 11).

3.4.2. Taxa de cruzamento

Na Tabela 12, são apresentadas as estimativas da taxa de cruzamento multilocos (t_m) e a taxa de cruzamento dos locos isolados (t_s), estimadas nas quatro populações de *Baccharis trimera*.

TABELA 12 -Taxa de cruzamento multilocos (t_m), taxa de cruzamento média dos locos isolados (t_s), taxa de cruzamento entre aparentados (t_m-t_s) e taxa de autofecundação (S) estimada em quatro populações naturais de *Baccharis trimera*.

Populações	t_m	t_s	t_m-t_s	S
UFSM*	1,105 (0,063)	1,070 (0,067)	0,035 (0,082)	-0,105
AGE	0,991 (0,095)	1,017 (0,064)	-0,025 (0,065)	0,009
SVS	0,917 (0,045)	0,980 (0,060)	-0,064 (0,037)	0,083
RBC	1,200 (0,021)	1,200 (0,012)	0,000 (0,020)	-0,2
Média	1,0532	1,0667	0,0135	

*UFSM – Universidade Federal de Santa Maria; AGE - Arroio Grande; RBC: Reserva Biológica da CORSAN; SVS: São Vicente do Sul.

Observando-se os dados da Tabela 12, todas as populações apresentaram uma taxa de alogamia bastante elevada. Os maiores valores foram verificados para UFSM e RBC, superiores a 1,0. Os valores de endogamia (t_m-t_s) foram reduzidos, sendo negativos para AGE e SVS, sugerindo ausência de cruzamento entre aparentados. Para a população de SVS a taxa de cruzamento t_m foi 0,917, indicando possibilidade de cruzamento misto.

3.4. Fluxo gênico

As estimativas do valor médio aparente do fluxo gênico, para as dez populações de indivíduos adultos, foi de $N_m = 7,33$ indivíduos por geração. O tamanho aparente médio de vizinhança para *Baccharis trimera* foi de $N_b = 46,74$ indivíduos. Este resultado sugere que as “unidades

panmíticas”, ou vizinhança, como sugere Wright (1951), significando que os grupos parentais que trocam genes ao acaso estão em torno de 46, 74 indivíduos.

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, neste trabalho, usando marcadores de isoenzimas, permitiram avaliar a distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Baccharis trimera*.

Com base na análise destes dados, a distribuição das frequências alélicas, nos dez locos, das dez populações de indivíduos adultos e nas quatro populações das progênies maternas, variaram desde a completa fixação, como, por exemplo, do alelo 1 do loco MDH-2 para as populações de TOR, FAF, CAC, EPA, TUR e AGE nos indivíduos adultos, até elevado polimorfismo como aconteceu com os locos α -EST e β - EST para todas as populações de adultos e progênies. A presença de alelos raros e/ou exclusivos, que não ocorreram em indivíduos adultos e ocorreram nas progênies e vice-versa, foram observados em algumas populações. Temos, como exemplos: O alelo 3, do loco ACP-1, só ocorre na população de progênies de SVS, o mesmo alelo não foi verificado nas populações de adultos. Desta mesma forma, o alelo três para o loco MDH-2 só ocorreu para a população de UFSM das progênies, não sendo verificado para os indivíduos adultos. SVS também apresentou o alelo três para os sistemas NADHDH, EST-1, MDH-1 que não apareceu nas demais populações de progênies. Estes resultados evidenciam diferenças entre as populações em relação às frequências alélicas, sugerindo a ocorrência de fluxo gênico proveniente de indivíduos reprodutivos não representados na amostra das populações avaliadas ou em outras demes, condições adaptativas, efeitos de deriva genética, tamanho efetivo da população (este termo, utilizado no contexto deste trabalho, se refere ao número de indivíduos reprodutivos da população), bem como podem estar indicando uma amostragem insuficiente.

A presença destes alelos tem implicações na determinação de estratégias de manejo e conservação de populações naturais, pois a extração de indivíduos da espécie, sem um manejo adequado, bem como a redução do tamanho da população pela ação antrópica (degradação)

poderá levar à perda destes alelos por deriva. Conforme discute Perecin (2000), se o loco estiver sob seleção e, a direção do aumento da frequência deste alelo conferir maior adaptabilidade ao genótipo que o carrega, esse alelo poderá ter sua frequência aumentada nas próximas gerações. Assim esse alelo, poderá conferir maior adaptabilidade ao genótipo que o carrega. Cabe ressaltar que, na espécie em estudo, a população que apresentou maior número de alelos raros foi a população de SVS (São Vicente do Sul), cujo tamanho populacional é maior que as demais e está situada em um ambiente de campo.

A ocorrência de alelos raros e/ou exclusivos também foi verificada em outras populações naturais de espécies, como *Maytenus ilicifolia*, por Perecin (2001) e Steenbock (2003); *Araucaria angustifolia* (Auler, 2002); *Tabebuia cassinoides* (Sebben *et al.*, 2000), entre outros.

A porcentagem de locos polimórficos foi alta, variando de 60% a 90% nos indivíduos adultos e 75% a 87% nas progênies. Estes valores eram esperados, pois trabalhou-se com locos polimórficos.

Os níveis de diversidade genética H_e e H_o médios de (0,217; 0,217) para os adultos e (0,244; 0,243) para as progênies, apresentados pelas populações de *B. trimera*, podem ser considerados altos se comparados com outras espécies. Em espécies medicinais foi encontrado em *Taxus brevifolia* Nutt $H_e = 0,124$ (Wheeler *et al.*, 1995); *Piper cernuum* Vell com $H_e = 0,187$ (Mariot *et al.*, 2000). Steenbock (2003) estudou duas populações naturais de *Maytenus ilicifolia* e encontrou $H_e = 0,264$ e $0,186$ para indivíduos adultos e $H_e = 0,152$ e $0,151$ para as progênies maternas. Valores maiores que os encontrados para esta espécie (*B. trimera*) foram encontrados por Reis (1996 b), o qual obteve em *Euterpes edulis* (palmitreiro) $H_e = 0,452$ e $H_o = 0,467$ para indivíduos adultos e $H_e = 0,436$ e $H_o = 0,403$ para as progênies, sugerindo uma alta diversidade genética. Hamrick & Godt (1990) estimaram em 0,157 a H_e de espécies de polinização entomofílica e dispersão anemocórica. Estes resultados, comparados com os aqui obtidos, sugerem altos níveis de

variabilidade genética apresentados pela espécie, o que possivelmente decorre de suas características, tais como: ser uma espécie comum, de alta densidade espacial e apresentar eficientes mecanismos de dispersão de genes (pólen e sementes), permitindo, assim, uma intensa troca gênica entre e dentro de populações. Estes altos níveis de variabilidade genética possibilitam a ocorrência de um grande número de novas combinações genotípicas, aumentando o potencial evolutivo da espécie, pela maior capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais. Contudo, no presente estudo, os locos utilizados foram todos polimórficos, produzindo valores maiores de diversidade quando comparados com locos tomados ao acaso. Isto já foi constatado em outros estudos realizados por Reis (1996 b), Auler (2002) e Mariot, (2002).

Cabe ressaltar que a heterozigosidade observada apresentou-se numericamente maior que a esperada tanto para adultos, quanto para as progênies.

Os maiores índices de diversidade foram observados nas populações de SVS, AGE, FAF, EPA, RBC e UFSM. Os menores estão relacionados às populações de TOR, TUR e TUM.

Estes índices, encontrados através de isoenzimas, estão de acordo com os descritos no capítulo II, onde foi estudada a microsporogênese (formação e viabilidade do pólen): A população de Torres (TOR) foi aquela que apresentou menores índices de viabilidade polínica, apresentando também índices inferiores de variabilidade genética (obtidos pelos marcadores de isoenzimas). Por outro lado, a população de São Vicente do Sul (SVS), apresentou maior viabilidade polínica, apresentando também maiores índices de variabilidade genética. Utilizando-se apenas os resultados obtidos por isoenzimas, as populações de Torres (TOR), Turvo (TUR) e Turvo manejada (TUM) foram aquelas que apresentaram menores índices de variabilidade em relação as demais.

Há indicativos que estas diferenças podem estar relacionadas com o tamanho efetivo populacional, considerando que a população de SVS constitui-se na população com maior número de indivíduos em comparação com todas as demais. Por outro lado, o que caracteriza as três populações, anteriormente citadas (TOR, TUR e TUM), é o reduzido número de indivíduos (Capítulo I, Tabela 2).

Ainda em relação ao tamanho efetivo populacional, podemos destacar outras populações que também apresentaram níveis elevados de variabilidade genética (isoenzimas) e de viabilidade polínica: Arroio Grande (AGE), Fazenda Amola Faca (FAF), Caçador (CAC) e EPAGRI Caçador EPA. Nestas, também foi observado grande número de indivíduos.

Pode-se, também, estabelecer comparações em relação ao tipo de vegetação. A vegetação característica de TOR, TUV e TUM é floresta, enquanto que a população de SVS está localizada em uma região de vegetação predominante de campo nativo. Há a possibilidade de que SVS seja favorecida pelas características da espécie (pioneira) por situar-se uma área mais aberta, de plena incidência solar.

Além disto, há de se considerar que, na população de TUM, é realizada coleta (manejo) de parte da planta, aspecto que, aliado ao reduzido número de indivíduos, contribui para reduzir os recursos disponíveis para polinizadores.

Neste sentido, numa análise mais geral, os resultados obtidos sugerem o tamanho efetivo populacional e o tipo vegetacional como os fatores que mais influenciaram os níveis de diversidade e a presença de alelos raros.

Contudo, estes aspectos requerem aprofundamento nas investigações.

O índice médio de fixação dentro de populações (F_{IS}) apresentou valores negativos (-0,0249 e -0,0184) para adultos e progênies, respectivamente, corroborando com o F médio de Wright (-0,057; -0,022) para adultos e progênies, respectivamente, o qual sugere excesso de heterozigotos indicando efeitos de seleção em favor dos mesmos. Contudo, estes valores não foram significativos e este excesso não mostrou desvios significativos do equilíbrio de panmixia.

O excesso de heterozigotos tem sido investigado em palmitreiro (*Euterpe edulis Mart.*) por Conte *et al.* (2003). Estes autores avaliaram geneticamente o recrutamento de plantas em uma população da espécie, testando a hipótese da existência de seleção em favor dos heterozigotos. Foram analisadas várias categorias de plantas. Foi detectado um aumento na frequência de heterozigotos na direção dos indivíduos adultos. No entanto, os autores comentam que os marcadores alozímicos não demonstraram de forma inequívoca e contínua, entre as categorias, os efeitos de seleção em favor de indivíduos heterozigotos, considerando que mais da metade dos locos polimórficos não manifestaram uma tendência de aumento nas taxas de heterozigosidade na direção de indivíduos adultos.

As populações de *Baccharis trimera* também não apresentaram uma tendência clara do aumento de heterozigotos em favor dos indivíduos adultos, tendo em vista que as progênies também apresentaram excesso dos mesmos. Este aspecto requer estudos adicionais.

O índice de fixação para o conjunto das populações (F_{IT}) apresentou valor positivo relativamente baixo para os adultos (0,0086) e negativo (-0,0046) para progênies, ambos significativos, evidenciando endogamia reduzida e/ou ausente no conjunto de populações.

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações revelou que 96,7% da variabilidade genética encontra-se

distribuída dentro das populações e 3,3% entre populações. Para as quatro populações de progênies maternas avaliadas, o F_{ST} médio foi baixo (0,0135), porém, também significativo (Tabela 8 e 9). Estes dados sugerem a existência de uma baixa estruturação dentro das populações de adultos e progênies. Possivelmente estas divergências podem estar associadas à presença de alelos raros e/ou exclusivos.

Este padrão de estrutura genética é semelhante com trabalhos encontrados na literatura que indicaram que as espécies de ocorrência tropical, que se reproduzem por alogamia ou por sistema misto e que têm dispersão de sementes e pólen a longas distâncias, mantêm uma maior proporção de sua variabilidade genética dentro de populações (Hamrick & Godt, 1990).

Estudos realizados com outras espécies tropicais também vêm mostrando esta tendência. Reis (1996), estudando populações de *Euterpe edulis*, encontrou em progênies de quatro populações que 98% da variabilidade genética estava distribuída dentro de populações.

Em nove populações naturais de *Araucária angustifolia*, foi encontrado aproximadamente 96% da variabilidade dentro de populações (Auler, 2002).

Sebben *et al.* (2000), estudando populações naturais de *Tabebuia cassinoides* (caixeta), identificou aproximadamente 97% de variabilidade dentro das mesmas. Scheffer (2001), estudando populações de progênies de *M. ilicifolia*, identificou 93,5% da variabilidade dentro destas populações.

Steenbock (2003) encontrou, em populações de *Maytenus ilicifolia*, aproximadamente 97% da variabilidade dentro das populações de indivíduos adultos.

A análise do sistema reprodutivo sugere que *B. trimera* reproduz-se por fecundação cruzada. Estes resultados corroboram com os encontrados para o equilíbrio de panmixia. Os cruzamentos estão ocorrendo aleatoriamente com ausência de cruzamento entre

aparentados. Do ponto de vista genético, isso pode representar um grande potencial evolutivo, devido ao grande número de recombinações genotípicas disponíveis às alterações ambientais e colonização de novos ambientes.

Em geral, as espécies tropicais têm apresentado altos níveis de taxa de cruzamento como em *Tabebuia cassinoides* com $t_m = 0,895$ e $0,783$ (Sebb *et al.* 2000). A espécie *Maytenus ilicifolia* apresentou sistema de cruzamento misto, sendo preferencialmente alógama com $t_m = 0,954$ e $t_m = 0,729$ (Steenbock, 2003). Cabe ressaltar que os índices encontrados, neste estudo, são compatíveis com as características da espécie: espécie pioneira, polinizada por abelhas, sementes pequenas, aladas e dispersas pelo vento, espécie dióica. Neste sentido, sugere-se que a reprodução vegetativa é apenas um mecanismo para aumentar a eficiência no processo de colonização.

Em relação à possibilidade de cruzamento misto, na população de SVS, pode-se levantar algumas hipóteses: o aparecimento de indivíduos com flores femininas (pestiladas) e masculinas (estaminadas) em função das condições ambientais; possibilidade de apomixia; existência de cruzamentos preferenciais distorcendo as estimativas da taxa de cruzamento. Alguns aspectos, apresentados no capítulo I, dão suporte a estas hipóteses: população densa, com formação de grandes aglomerados (touceiras), maior número de indivíduos femininos (observações feitas durante a coleta de pólen). Uma outra possibilidade é a insuficiência amostral. Estas hipóteses remetem à necessidade de estudos mais detalhados sobre a biologia floral da espécie e sobre fatores ecológicos a ela associados, bem como à necessidade de ampliar o número de filhos amostrados por planta.

Não foi possível detectar diferenças relacionadas aos gradientes de altitude nas populações estudadas. Neste estudo, foram contemplados gradientes desde o nível do mar até cerca de 1.044 m de altitude (Tabela

2). Tendo em vista que, conforme literatura citada, a espécie ocorre até 2800 m, talvez seja interessante estudar populações localizadas em gradientes maiores.

A análise dos índices de diversidade e das frequências alélicas indicam que o tamanho efetivo da população e o tipo vegetacional são os fatores que mais influenciaram os resultados. A diminuição do tamanho efetivo pela ação antrópica pode ter ocasionado a perda de alelos por deriva genética e a diminuição nos níveis de diversidade nas populações que apresentaram índices reduzidos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram um alto nível de diversidade para a espécie, ocorrência de alelos exclusivos e/ou raros, que representa relevância considerável, pois permite uma melhor adaptação aos mais diversos microambientes.

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações revelou que 96,7% da variabilidade encontra-se distribuída dentro das populações e apenas 3,3% entre populações. A divergência genética entre as populações, apesar de baixa, foi estatisticamente significativa.

Baccharis trimera se reproduz por fecundação cruzada, com níveis altos de fluxo gênico e com cruzamento aleatórios.

O tamanho efetivo populacional e o tipo vegetacional foram os fatores que mais influenciaram os resultados. Os maiores índices de diversidade e presença de alelos raros/ou exclusivos foram observados nas populações que apresentam maior número de indivíduos reprodutivos.

Estes resultados deveriam balizar estratégias adequadas para a conservação de germoplasma, cultivo e manejo de forma sustentada da espécie.

6 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C.; PETERS,I.; BRUNE,W.; PASSADOR,G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. UFV, Viçosa, MG, 1991. 242 p.

ALFENAS, A. C.; **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins** UFV, Viçosa, MG, 1998. 554 p.

AULER, N. M. F.; REIS M. S.; GUERRA P. M. ; NODARI R. O. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**. v.25, n.3, p. 329-338, 2002.

AULER, N.M. F. **Avaliação da distribuição regional da variabilidade genética em populações naturais de *Baccharis trimera* (carqueja) no sul do Brasil**. 2003. 48 f. Exame de qualificação (doutorado). Curso de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. 2003.

BALBACH, A. **A Flora Nacional na Medicina Doméstica**. 11^a edição. Edições "A Edificação do Lar". São Paulo. 1963. 230p.

BARROSO, G.M.; BUENO, O. L. **Compostas Subtribo: Baccgaridinae**. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí, agosto de 2002.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. p. 205 e 214, 1926.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Civilização brasileira. 1962. 177 p.

GUERRA, M. P. ; REIS, M. S. **Inventário dos recursos Florestais da Mata Atlântica - A Exploração e Utilização dos Recursos, Seus**

Impactos Sócio-Econômicos Atuais e Potencialidades de Manejo Sustentável. *Araucaria angustifolia* . Florianópolis, 1999.

HANSEL, R Hagers Handbuch fuer die Pharmazeutische Praxis. **Springer Verlag**, p. 795-801, 1992.

HAMRICK, J. L. GODT, M. J. W.; Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forest**, v. 6: p. 95-124, 1990.

KAGEYAMA, P.Y. **Conservação “in situ” de recursos genéticos de plantas**. IPEF. 35: 7-37, 1987.

KEPHART, S. R. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analyses of techniques. **Amer. J. Bot.**, v.77(5), p. 693-712, 1990.

LI, C. C. & HORVITZ, D. G. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. **American Journal of Human Genetics**, v 5(2), p. 107-117, 1953.

MARIOT, A.; DI STASI, L.C.; REIS, M.S. Genetic diversity in natural populations of *Piper cernuum*. **The American genetic Association**. v.93, p. 1-5, 2002.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 70(12): p. 3321-3, 1973.

NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Ann. Human. Genet.** v. 41, p. 225-33, 1977.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Aspectos genéticos e moleculares da produção vegetal. In: SIMÕES, C. M. O. (org.). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade - UFRGS/ ed. UFSC, cap.2,p.27-40, 2002.

PERECIN, M.B. **Diversidade genética em populações naturais de espécies de espinheira-santa, *Maytenus aquifolia* Mart. E *M. ilicifolia* Mart. Ex Reiss. (Celastraceae).** 2001. 134f. Tese (Doutorado)/ESALQ/USP. Piracicaba, ESALQ, 2001.

REIS, M. S. **Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais.** In: Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP 199 – 215, 1996 a.

REIS, M. S **Tese Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* MARTIUS).** 1996. 210f Tese (doutorado/ESALQ/USP), Piracicaba, 1996 b.

REIS, M. S; MARIOT, A.; STEENBOK W. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. (org). **Farmacognosia - da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade – UFRGS/Ed. UFSC, 2002. cap. 3 p. 41-62.

RITLAND, K. **Multilocus mating system program: Version 1.1.** Toronto, University of Toront, 1997.

RITLAND, K. ; JAIN, S. A model for estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, v. 47(1), p. 35-52, 1981.

RITLAND, K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating sytems. **The Journal of Heredity**, n. 81(3), p. 235-7. 1990.

SEBBEN, A. M. ; SEOANE, C.E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VENKOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*). **Scientia forestalis** n. 58, p. 127-143, dez 2000.

SCHEFFER, M.C; MING, L.C.; ARAÚJO, A. J. **Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, 2003. Disponível em (www.cpatsa.embrapa.br/livroorg/medicinaisconservação.doc) Acesso em 12 out. 2004.

SLATKIN, M. E; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, n. 43 (7), p. 1349-68, 1989.

STEENBOCK, W. **Fundamentos para manejo de populações naturais de espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. (Celastraceae)**. Dissertação (Mestrado)/UFSC). 2003. 145 f. Florianópolis, UFSC, 2003.

SWOFFORD, D.L. ; SELANDER, R.B.A. **BIOSYS-2** - A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7. **Natural History Survey**, Illinois. 1997. 43 p.

WHEELER, N. C. .Weyerhaeuser Company, George R. Staebler Forestry Reserarch Center, 505 N.Pearl Street, Centralia, WA 98531, U.S.A.,1995.

WORKMAN, P .L.; NISWANDER, J. D. Population studies on Southweteran Indian tribes II. Local genetic differentiation in the Papagp. **Am J. human Genet.**, n. 22, p. 24-49, 1970.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, n. 16, p.97 – 159, 1931.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugenics**, n. 15, p. 395-420. 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, n. 19, p. 395-420, 1965.

CONCLUSÕES FINAIS E FUNDAMENTOS PARA A CONSERVAÇÃO GENÉTICA E/OU MANEJO DE *Baccharis trimera*.

Alguns aspectos relacionados aos eventos genéticos da espécie foram elucidados nesse trabalho, constituindo-se em elementos a serem considerados na conservação de recursos genéticos da mesma.

De acordo com os resultados obtidos, constatou-se elevada variabilidade genética nas populações para todos os parâmetros avaliados. O estudo da microsporogênese, formação do pólen e sua viabilidade, contagem do número de cromossomos, bem como da estrutura e distribuição da variabilidade genética, fornece informações relevantes para o conhecimento genético da espécie.

Estes aspectos, tomados em conjunto, apontam para a existência de ampla variabilidade genética intra-específica em *Baccharis trimera*, possivelmente resultante de pressões ambientais.

A análise geral sugere associação do tamanho efetivo populacional e do tipo vegetacional com os níveis de diversidade e as frequências alélicas nas populações estudadas. Este conjunto de condições ambientais pode estar influenciando a adaptabilidade das mesmas. Assim, as informações obtidas, no presente estudo, devem ser consideradas no cultivo e conservação, juntamente com estudos de ecologia, hábitos de propagação da espécie, demografia e regeneração natural.

A redução no tamanho das populações, através da exploração não sustentável, fragmentação e degradação das populações naturais leva à deriva genética caracterizada pela perda e fixação aleatória de alelos, aumento de parentesco e da endogamia dentro das populações. Ainda pode levar a mudanças na quantidade e comportamento de polinizadores, gerando alterações nos níveis de cruzamento, com aumento da

autofecundação tendo como conseqüência a endogamia. Este aspecto trás implicações importantes na conservação, manejo e melhoramento da espécie, pois em plantas alógamas, como é o caso da carqueja, pode levar à expressão de genes deletérios que podem causar redução na produtividade, fertilidade, viabilidade das sementes, vigor e adaptação.

A alta viabilidade do pólen, a alta diversidade de genes, bem como a alta taxa de cruzamento, levam à ampliação da variabilidade genética e a manutenção do fluxo gênico que permite troca alélica, possibilitando uma ampla adaptação ao meio, pois as gerações posteriores poderão sempre apresentar novos recombinantes. Portanto, a reprodução sexuada é um mecanismo eficaz para a perpetuação e evolução da espécie e manutenção da dinâmica populacional. Estes aspectos, aliados à ocorrência de reprodução vegetativa, estão relacionadas com as estratégias que estas plantas possuem para colonizar os mais diversos ambientes de forma eficaz. Aqui, também, cabem novas investigações quanto à relação entre estas características e o princípio ativo produzido pela espécie. Esta se constitui em outra dimensão importante para definir estratégias de cultivo e/ou manejo, tendo em vista a conservação das populações da espécie. Em outras palavras, alterando o ambiente de ocorrência, poderá haver alterações em termos de qualidade e quantidade do princípio ativo.

Neste sentido, considerando a elevada heterozigosidade e viabilidade do pólen, o grande número de alelos e que a maior parte da variabilidade genética encontra-se dentro das populações, para conservar recursos genéticos de *Baccharis trimera*, de modo eficaz, é importante conservar *in situ* algumas populações relativamente grandes e com altos níveis de variabilidade genética para que a espécie possa dar continuidade em seu processo evolutivo. Assim, também, poderão constituir-se em populações bases para futuros programas de melhoramento e cultivo da espécie. Cabe ressaltar que a possibilidade de

melhoramento e/ou cultivo da espécie constitui-se numa estratégia relevante na ocupação de áreas degradadas e valorização de formações secundárias, aspecto aliado à manutenção de polinizadores para as demais espécies do ecossistema onde ela ocorre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**. V. 5 (1): p. 13-18, 1980.

ALFENAS, A.C.; PETERS,I.; BRUNE,W.; PASSADOR,G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. UFV, Viçosa, MG, 1991. 242 p.

ALFENAS, A. C.; **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins** UFV, Viçosa, MG, 1998. 554 p.

ARROYO, M. T. K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M. & RAVEN, P. H. (eds).). **Advances in legumes Systematics 2**: p. 723 – 769, 1981.

AULER, N. M. F.; REIS M. S.; GUERRA P. M. ; NODARI R. O. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**. v.25, n.3, p. 329-338, 2002.

AULER, N.M. F. **Avaliação da distribuição regional da variabilidade genética em populações naturais de *Baccharis trimera* (carqueja) no sul do Brasil**. 2003. 48f. Exame de qualificação (doutorado). Universidade Federal de Santa Maria. 2003.

BALBACH, A. **A Flora Nacional na Medicina Doméstica**. 11^a edição. Edições "A Edificação do Lar". São Paulo. 1963. 230 p.

BARRET, S.C.H. & KOHN, J. R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D. A. & HOLSINGER, K.E. (eds.). **Genetic and conservation of rare plants**. Oxford University Press. N. Y, p. 3-30, 1991.

BATTISTIN, A. **Técnicas para Mitose e meiose em Vegetais**: Universidade Federal de Santa Maria, setembro de 2000. 11p. Notas de aula. Digitado em Microsoft Word for Windows 97.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) e *Rhynchosia* LOUR (Leguminosae-Faboideae), nativas na região sul do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 39-44, 2001.

BOFF, T. Comportamento meiótico e fertilidade do pólen em espécies de *Leucaena* Bentham (Leguminosae/Mimosoidae). **Dissertação (Mestrado/UFRGS)**, Porto Alegre, 2002. 159 p.

CENARGEN - CENTRO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS. **Biodiversidade brasileira**. Brasília, EMBRAPA, 1995.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. p. 205 e 214, 1926.

CORSAN - Companhia Riograndense de Saneamento e Abastecimento de Água, Santa Maria, Relatório dos Estudos ambientais, EPT 403/92 – Gel 04/08/92. nov/93 179 -10-507 CAP-EE.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Civilização brasileira., 1962. 177 p.

Di STASI, L. C. (organizador). **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP. 1996. 230 p.

EMATER/RS. **Plantas medicinais mais usadas no Rio Grande do Sul**. Catálogo EMATER/RS 2003.

EMBRAPA/IBAMA. Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas. **Resultados da 1ª reunião técnica**. EMBRAPA/IBAMA, Brasília, 2002.

GARCIA, A.G.; BATTISTIN, A. Microsporogênese de três espécies do gênero *Macroptilium* (BENTH.) URBAN (leguminosae – Papilionoideae) nativas no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 8, n1-2, p. 121-129, 2002.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara. 1988. 142 p.

GUERRA, M. **Como observar cromossomos**. Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto- São Paulo: FUNPEC- editora. 2002. 131 p.

GUERRA, M. P. & REIS, M. S. **Inventário dos recursos Florestais da Mata Atlântica - A Exploração e Utilização dos Recursos, Seus Impactos Sócio-Econômicos Atuais e Potencialidades de Manejo Sustentável. *Araucaria angustifolia*** . Florianópolis, 1999.

GOLVBOVSKAYA, I.N. Genetics control of meiosis. International Review of **Cytology**. 58:247-290, 1979.

GUINET, P. H. **Advances in legume biology** – struture evolution, and biology of pollen in Leguminosae. Missouri Botanical garden, 1989. 842 p.

HANSEL, R **Hagers Handbuch fuer die Pharmazeutische Praxis**. Springer Verlag. p. 795-801, 1992.

HAMRICK, J. L. GODT, M. J. W.; Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forestv**. v. 6, p. 95-124, 1990.

KAGEYAMA, P. Y; DIAS, I.S. Aplicação da genética em espécies florestais nativas. In: Congresso Nacional sobre Essências Nativas. São Paulo, **Anais**. 762-91, 1982.

KAGEYAMA, P.Y. **Conservação “in situ” de recursos genéticos de plantas**. IPEF. V. 35, p. 7-37, 1987.

KARSBURG, I. V. **Citogenética, eletroforese e concentração de proteínas totais em cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul**. 2002. 104f. Dissertação (mestrado/UFSM) Santa Maria, 2002.

KEPHART, S. R. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analyses of techniques. **Amer. J. Bot.**, v. 7(5), p. 693-712, 1990.

LI, C. C. & HORVITZ, D. G. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. **American Journal of Human Genetics**, v. 5(2), p. 107-117, 1953.

LOGUERCIO, A. P. **Microsporogênese, eletroforese e atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels oriundo do Rio grande do Sul**. 2003, 89 p. (Tese Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2003.

LOVE, R. A. Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses. **Circular n. 74**. Secretaria da agricultura do Rio Grande do Sul. Porto alegre. 14 p. 1949.

MAFFEI, E.M.D.; MARIN-MORALES, M.A.; RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; MATZENBACHER, N.I. Chromosomal polymorphism in 12 populations of *Mikania micrantha* (Compositae). **Genetics and molecular Biology**, São Paulo, v. 22, n. 3, p.433-444, 1999.

MARIOT, A. ; DI STASI, L.C.; REIS, M.S. Genetic diversity in natural populations of *Piper cernuum*. **The American genetic Association**. v.93, p. 1-5, 2002.

MARKERT, C.L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. **Proceedings of the national academy sciences (USA)**, v. 45, p. 453-63, 1959.

McNEELY, J. A.; GADGIL, M.; LEVEQUE, C.; PADOCH, C.; REDFORD, K. In: HEYWOOD, V. H. & WATSON, R. T.; (ed.) **Global Biodiversity Assenment**, UNEP, Cambridge, University press, 1995. 1140 p.

MING, L. C. **Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares**. V. I, p 46, 1998.

MONTANARI Jr. I, **Inventário dos recursos florestais da Mata atlântica: Plantas medicinais. Exploração, impactos atuais e potencialidades de manejo**. CCQBA- UNICAMP. 1999.

NASSAR, N. M. A. & FREITAS, M. Prospects of polyploidizing Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, by unreduced microspores. **Plant Breeding**. v. 116, p.195-197. 1997.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 70(12), p. 3321-3, 1973.

NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Ann. Human. Genet.**, v.41, p. 225-33, 1977.

NEI, M. Molecular evolutionary genetics. **Columbia University Press**, N. Y., USA. 1987.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Aspectos genéticos e moleculares da produção vegetal. In: SIMÕES, C. M. O. (org.). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade - UFRGS/ ed. UFSC, cap.2,p.27-40, 2002.

OLIVEIRA, E. J. ; BATISTA, S. V. G; MALUF, W.R. Cultive carqueja em sua horta. **Boletim Técnico de Hortaliças** n. 027 –Departamento de Agricultura. Lavras – MG, 1a edição, julho,1999.

OYAMA, K. Conservation biology of tropical trees: demographic and genetic considerations. **Environment update**. v 1, p. 17-32, 1993.

PAGLARINI, m. S. meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and molecular Biology**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 997-1002, 2002.

PERECIN, M.B. **Diversidade genética em populações naturais de espécies de espinheira-santa, *Maytenus aquifolia* Mart. E *M. ilicifolia* Mart. Ex Reiss. (Celastraceae)**. 2001. 135f. Tese (Doutorado)/ESALQ/USP. Piracicaba, ESALQ, 2001.

PINÃ-RODRIGUES, F.C.M.; COSTA, L.G.S.; REIS, A. Estratégias de estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de florestas tropicais.

In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. **Anais**. Campos do Jordão: SBS-SBEF, p.676-684, 1990

REIS, M. S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. In: **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP. P. 199 – 215, 1996 a.

REIS, M. S **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* MARTIUS)**. 1996. 210f. Tese (Doutorado/ESALQ/USP), Piracicaba, 1996 b.

REIS, M. S; MARIOT, A.; STEENBOK W. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. (org). **Farmacognosia - da planta ao medicamento**. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade – UFRGS/Ed. UFSC, cap. 3 p. 41-62. 2002.

RITLAND, K. **Multilocus mating system program: Version 1.1**. Toronto, University of Toront, 1997.

RITLAND, K. & JAIN, S. A model for estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, v. 47(1) p. 35-52, 1981.

RITLAND, K. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. **The Journal of Heredity**,v. 81(3), p. 235-7. 1990.

S. A. S Institute. **SAS/STAT Guide for personal computers**, Version 6.03. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1996.

SEBBEN, A. M. ; SEOANE, C.E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; VENKOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*). **Scientia forestalis** n. 58, p. 127-143, dez 2000.

SCHEFFER, M.C; MING, L.C.; ARAÚJO, A. J. **Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**.2003. Disponível

em (www.cpatsa.embrapa.br/livroorg/medicinaisconservação.doc).
Acesso em 12 de out. de 2004.

SINGH, R.J. **Plant cytogenetics**. Boca Raton: CRC Press, 1993.
391 p.

SHELDON, J.W.; BALICK, M.J.; LAIRD, S. A. **Medicinal plants: can utilization and conservation coexist?** NYBG. *Advances in economic botany*; v. 12, 1997. 104 p.

SLATKIN, M. E BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, v.43 (7), p. 1349-1368, 1989.

SOUSA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. Microsporogênese e Microgametogênese Associadas ao tamanho do botão floral, antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência Agrotecnica**, Lavras. v.26, n.6, p.1209-1217, 2002.

STEENBOCK, W. **Fundamentos para manejo de populações naturais de espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. (Celastraceae). 2003. 145f.** Dissertação (Mestrado)/UFSC. Florianópolis, UFSC, 2003.

STRECK, E. V.; KAMPF, N. DALMOLIN,R.S.D.KLANT, E.; NASCIMENTO, P.C., SCHNEIDER, P. **Solos do Rio Grande do Sul**, UFRGS, 2002. 126p.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. In: **CURRENT Topics in plant cytogenetics related to plant improvement** . Viena: T. Lelley; Universitäts Verlag, . p. 22-33, 1998.

SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B.A. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. **Release 1.7. Natural History Survey**, Illinois. 1989. 43 p.

TASCHEO, O. M.; PAGLIARINI, M. S.; Número de cromossomos em populações de *pfaffia glomerata* (Amaranthaceae). In: 46 Congresso Nacional de Genética, 2000, Águas de Lindóia, SP, **Anais...** Águas de Lindóia, p. 368, 2000.

TEDESCO, S.B. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies Brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae).** 2000. 163f. Tese (Doutorado/UFRGS). Porto Alegre, UFRGS, 2000.

TORTOSA, R. D. Boletín de la Sociedad argentina de Botánica. **El genero *Discaria* (Rhamanaceae).** V.22 (1-4), p.301-335, Diciembre, 1983.

ZARCO, C. R. A New method for estimating karyotype asymetry. **Taxon**, v. 35, p. 526-530, 1986.

WILMS, H. J.; CARMICHAEL, J. W; SCHANK, S. C. Cytolical and morphological investigations on the grass *Hemarthria altíssima* (poir) Starpf et C. E. Hubb. **Crop Science**, v. 10, p. 309-312, 1970.

WHEELER, N. C **.Weyerhaeuser Company, George R. Staebler Forestry Reserarch Center, 505 N.Pearl Street, Centralia, WA 98531, U.S.A.,1995.**

WORKMAN, P .L.; NISWANDER, J. D. Population studies on Southweteran Indian tribes II. Local genetic differentiation in the Papagp. **Am J. human Genet.**, v. 22, p. 24-49, 1970.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann. Eugenics**, v. 15, p. 395-420. 1951.

WRIGHT, S. **The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating Evolution**, v. 19, p. 395-420, 1965.

ANEXOS

ANEXO A - Sistemas enzimáticos testados em *Baccharis trimera*.

Enzima	Código	Sigla
Shiquimato Desidrogenase	E.C.1.1.1.25	SKDH
Malato Desidrogenase	E.C.1.1.1.37	MDH
Isocitrato Desidrogenase	E.C.1.1.1.42	IDH
Fosfatase Ácida	E.C.-3.1.3.2	ACP
Peroxidase	E.C.1.11.1.7	PRX
Fosfoglucomutase	E.C.2.7.5.1	PGM
Fosfoglucose Isomerase	E.C.5.3.1.9	PGI
Glucose-6-Fosfato Desidrogenase	E.C.1.1.1.49	G6PDH
Diaforase	E.C. 1.8.1.4	DIA
β - Esterase	E.C. 3.1.1.1	β -EST
∞ - Esterase	E.C.3.1.1.1	∞ -EST
Fosfatase Alcalina	E.C.3.3.3.1	ALP
6 – Fosfogluconato Desidrogenase	E.C.1.1.1.44	6PGDH
Glicerato - 2 – Desidrogenase	E.C.1.1.1.29	G2DH
Glutamato Desidrogenase	E.C.1.4.1.3	GDH
Glutamato–Oxaloacetato– Transminase	E.C.2.6.1.1	GOT
Sorbitol Desidrogenase	E. C. 1.1.1.14	SDH
Superóxido Dismutase	E.C.1.15.1.1	SOD
Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo Desidrogenase	E.C.1.6.99.3	NADHDH
Manitol Desidrogenase	E.C.1.1.1.67	MADH

ANEXO B – Genótipos de indivíduos adultos obtidos a partir de dez locos, para dez populações de *Baccharis trimera*

POP USM

0001 USM 11 13 11 12 12 12 11 11 11 11
0002 USM 11 13 12 12 11 12 11 11 12 11
0003 USM 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0004 USM 11 11 11 12 11 11 12 11 12 11
0005 USM 11 11 11 11 11 22 11 13 11 11
0006 USM 11 22 11 11 12 11 12 12 11 11
0007 USM 11 11 11 12 12 11 11 11 11 11
0008 USM 11 11 12 11 12 11 11 12 11 11
0009 USM 11 11 12 11 11 11 11 13 11 11
0010 USM 11 11 22 13 22 11 11 11 11 11
0011 USM 11 11 12 13 12 11 11 11 12 11
0012 USM 11 11 11 22 12 11 11 11 11 11
0013 USM 11 22 22 11 12 11 11 11 11 11
0014 USM 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0015 USM 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0016 USM 11 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0017 USM 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0018 USM 11 11 12 11 12 11 11 11 11 11
0019 USM 11 11 11 13 12 11 11 11 11 11
0020 USM 11 11 12 12 12 11 11 11 11 11
0021 USM 11 11 12 11 12 12 11 12 11 11
0022 USM 11 11 11 12 11 12 11 11 11 11
0023 USM 11 12 12 11 11 12 11 11 11 11
0024 USM 11 12 22 12 11 12 11 11 11 11
0025 USM 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0026 USM 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0027 USM 11 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0028 USM 11 12 11 11 11 11 12 11 11 11
0029 USM 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0030 USM 11 12 11 11 11 11 12 11 11 11

POP COR

0001 COR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 12
0002 COR 11 12 11 12 11 11 12 11 11 11
0003 COR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0004 COR 11 12 11 12 11 11 11 11 11 12
0005 COR 12 12 11 12 11 11 11 11 11 11
0006 COR 11 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0007 COR 12 11 22 12 11 11 11 11 11 12
0008 COR 12 11 12 11 12 11 11 11 11 11
0009 COR 11 11 12 11 12 11 11 11 11 11
0010 COR 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
0011 COR 11 12 11 11 11 11 22 11 11 11
0012 COR 11 12 11 11 12 11 11 11 11 11
0013 COR 11 11 11 11 22 11 11 11 11 11
0014 COR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0015 COR 11 11 12 11 11 11 11 12 11 11
0016 COR 11 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0017 COR 11 11 22 12 11 11 11 12 11 11
0018 COR 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0019 COR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 12
0020 COR 11 11 12 11 22 11 11 11 11 11
0021 COR 11 11 12 11 12 11 11 12 11 11
0022 COR 11 12 11 22 11 11 11 11 11 11
0023 COR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0024 COR 12 12 22 11 11 11 11 11 11 11
0025 COR 12 11 22 11 12 11 11 11 11 11
0026 COR 12 11 12 11 12 11 11 12 11 12
0027 COR 12 11 12 11 12 11 11 11 11 12
0028 COR 11 11 22 22 11 11 11 12 11 11
0029 COR 12 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0030 COR 11 11 22 12 11 11 11 12 11 11

POP AGE

0001 AGE 22 13 11 11 12 12 11 11 12 11

0002 AGE 11 12 12 12 12 11 11 11 11 11
0003 AGE 11 12 11 11 12 11 11 11 11 11
0004 AGE 12 11 11 12 11 11 11 22 11 11
0005 AGE 12 12 11 11 11 12 11 12 11 11
0006 AGE 12 12 11 11 11 11 11 12 11 11
0007 AGE 12 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0008 AGE 11 11 12 11 11 11 11 12 11 11
0009 AGE 11 12 11 12 11 12 11 12 11 11
0010 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0011 AGE 11 11 12 11 11 11 12 12 11 11
0012 AGE 11 11 12 13 11 11 11 12 11 11
0013 AGE 11 11 12 13 11 11 11 11 11 11
0014 AGE 11 12 12 11 12 11 11 11 11 11
0015 AGE 11 12 22 12 11 11 11 11 12 11
0016 AGE 11 11 11 13 11 11 11 12 11 11
0017 AGE 11 22 11 13 12 11 11 11 11 11
0018 AGE 11 12 12 12 12 11 11 13 12 11
0019 AGE 11 11 12 12 11 11 11 13 12 11
0020 AGE 11 12 11 11 12 11 11 11 11 11
0021 AGE 11 11 11 12 12 11 11 11 11 11
0022 AGE 11 11 22 11 11 11 11 11 11 11
0023 AGE 11 11 11 12 22 11 11 11 11 11
0024 AGE 11 11 11 22 12 11 11 11 11 11
0025 AGE 12 11 12 11 12 11 11 22 11 11
0026 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0027 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0028 AGE 12 12 12 11 12 11 11 11 11 11
0029 AGE 11 11 12 12 11 11 11 12 11 11
0030 AGE 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11

POP SVS

0001 SVS 12 12 12 11 12 11 12 11 11 11
0002 SVS 12 11 11 11 12 11 11 11 11 11
0003 SVS 22 11 12 12 12 11 11 11 13 11

0004 SVS 11 11 11 11 12 11 12 11 11 11
0005 SVS 11 11 11 13 13 11 11 11 11 11
0006 SVS 11 11 11 12 13 11 11 11 11 11
0007 SVS 11 12 11 12 22 11 11 12 12 11
0008 SVS 11 13 12 11 12 11 11 12 12 11
0009 SVS 22 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0010 SVS 11 22 12 13 13 12 11 11 12 11
0011 SVS 11 11 22 12 11 11 11 11 11 11
0012 SVS 12 11 22 11 11 11 11 12 13 11
0013 SVS 12 11 13 12 12 11 11 12 13 11
0014 SVS 12 12 13 12 12 11 11 11 11 12
0015 SVS 12 11 13 12 12 11 11 11 11 12
0016 SVS 11 12 11 11 12 11 11 11 11 11
0017 SVS 11 11 13 12 11 11 11 11 11 11
0018 SVS 12 11 12 12 12 11 11 12 11 12
0019 SVS 12 13 11 11 12 11 11 11 11 11
0020 SVS 11 11 12 11 13 11 11 11 11 11
0021 SVS 12 11 11 11 12 11 11 11 11 12
0022 SVS 22 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0023 SVS 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0024 SVS 11 11 12 12 11 11 11 11 11 12
0025 SVS 11 11 22 11 12 11 11 11 11 11
0026 SVS 11 11 22 11 12 11 12 11 11 11
0027 SVS 11 11 12 22 11 11 12 11 12 12
0028 SVS 11 11 12 11 11 11 12 11 11 11
0029 SVS 12 12 11 11 11 11 11 11 11 12
0030 SVS 12 11 12 11 11 11 11 11 11 12

POP TOR

0001 TOR 11 12 12 12 12 11 12 11 11 11
0002 TOR 11 12 11 11 12 11 11 11 11 11
0003 TOR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0004 TOR 11 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0005 TOR 11 11 12 12 11 11 11 13 11 11

0006 TOR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0007 TOR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0008 TOR 11 11 12 22 13 11 11 12 11 11
0009 TOR 12 12 11 12 13 11 11 11 11 11
0010 TOR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0011 TOR 11 11 12 12 13 11 12 11 11 11
0012 TOR 11 11 22 11 11 11 11 11 11 11
0013 TOR 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0014 TOR 11 12 12 12 22 11 11 11 11 11
0015 TOR 11 11 11 12 11 11 11 12 11 11
0016 TOR 11 11 22 12 12 11 11 11 11 11
0017 TOR 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0018 TOR 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0019 TOR 11 12 22 12 11 11 11 11 11 11
0020 TOR 11 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0021 TOR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0022 TOR 12 12 12 22 11 11 11 11 11 11
0023 TOR 12 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0024 TOR 11 11 22 11 12 11 11 11 11 11
0025 TOR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0026 TOR 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0027 TOR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0028 TOR 12 12 11 11 11 11 11 12 11 11
0029 TOR 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
0030 TOR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11

POP LAJ

0001 LAJ 11 11 12 12 11 11 11 11 12 11
0002 LAJ 12 11 12 12 12 11 11 11 12 11
0003 LAJ 12 11 12 12 12 11 11 12 11 11
0004 LAJ 12 12 12 13 12 11 11 11 12 11
0005 LAJ 11 11 13 12 12 11 11 12 11 11
0006 LAJ 11 11 13 12 11 11 11 12 12 11
0007 LAJ 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11

0008 LAJ 11 13 12 12 11 11 11 11 12 11
0009 LAJ 11 11 12 11 11 11 11 13 12 11
0010 LAJ 12 11 12 12 12 11 11 13 12 11
0011 LAJ 11 13 12 12 11 11 11 11 11 11
0012 LAJ 11 11 11 11 12 11 11 11 12 11
0013 LAJ 12 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0014 LAJ 11 11 12 11 11 11 11 13 12 11
0015 LAJ 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
0016 LAJ 11 11 11 11 11 11 11 11 22 11
0017 LAJ 11 11 11 12 12 11 11 11 11 11
0018 LAJ 11 12 11 11 11 11 11 11 11 11
0019 LAJ 11 11 12 12 11 11 11 11 12 11
0020 LAJ 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0021 LAJ 11 11 12 11 11 11 12 11 11 11
0022 LAJ 11 22 12 11 11 11 11 11 11 11
0023 LAJ 11 11 22 22 11 11 11 11 12 11
0024 LAJ 11 11 11 11 11 11 12 12 12 11
0025 LAJ 12 33 11 22 22 11 11 11 11 11
0026 LAJ 11 11 22 11 12 11 11 11 12 11
0027 LAJ 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0028 LAJ 11 11 12 11 11 11 11 22 11 11
0029 LAJ 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11
0030 LAJ 12 11 11 12 11 11 12 11 11 11

POP CAD

0001 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0002 CAD 11 13 12 12 11 11 11 11 11 11
0003 CAD 11 12 12 13 11 11 11 11 12 11
0004 CAD 11 12 12 12 12 11 11 11 12 11
0005 CAD 11 11 12 12 12 11 11 12 12 11
0006 CAD 11 11 12 12 12 11 11 11 11 11
0007 CAD 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11
0008 CAD 11 11 11 11 12 11 12 11 11 11
0009 CAD 11 12 12 12 12 11 11 11 11 11

0010 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0011 CAD 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0012 CAD 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0013 CAD 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0014 CAD 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0015 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0016 CAD 11 11 12 12 22 11 11 11 11 11
0017 CAD 11 13 12 13 11 11 11 11 11 11
0018 CAD 11 11 12 13 11 11 11 11 11 11
0019 CAD 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11
0020 CAD 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0021 CAD 11 13 11 11 11 11 11 11 11 11
0022 CAD 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0023 CAD 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11
0024 CAD 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11
0025 CAD 11 11 13 12 11 11 11 11 12 11
0026 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0027 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0028 CAD 11 11 12 12 11 11 11 11 12 11
0029 CAD 12 11 12 12 11 11 11 12 11 11
0030 CAD 12 11 12 12 11 11 12 11 11 11

POP EPA

0001 EPA 11 11 11 11 12 11 11 11 13 11
0002 EPA 11 11 11 13 12 11 11 11 11 11
0003 EPA 11 11 11 11 12 11 11 12 12 11
0004 EPA 11 13 11 13 12 11 11 12 11 11
0005 EPA 11 11 11 33 12 11 11 12 11 11
0006 EPA 12 13 11 13 22 11 12 12 11 11
0007 EPA 12 12 22 11 11 11 11 12 11 11
0008 EPA 11 12 11 11 11 11 12 11 11 11
0009 EPA 11 22 11 11 11 11 12 11 11 11
0010 EPA 11 13 12 12 11 11 11 12 11 11
0011 EPA 11 11 12 12 11 11 11 12 11 11

0012 EPA 11 11 11 12 11 11 11 22 11 11
0013 EPA 11 11 11 12 11 11 11 12 11 11
0014 EPA 22 12 12 12 11 11 11 12 11 11
0015 EPA 12 12 11 12 11 11 11 12 11 11
0016 EPA 11 12 11 22 11 11 11 12 11 11
0017 EPA 11 12 12 11 11 11 11 11 11 11
0018 EPA 11 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0019 EPA 11 12 12 12 11 11 11 11 11 11
0020 EPA 11 12 12 12 11 11 12 11 11 11
0021 EPA 11 12 12 11 11 11 12 11 11 11
0022 EPA 11 12 11 11 11 11 12 11 11 11
0023 EPA 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11
0024 EPA 11 11 11 11 11 11 12 11 11 11
0025 EPA 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0026 EPA 11 11 11 11 11 11 12 11 12 11
0027 EPA 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11
0028 EPA 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0029 EPA 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0030 EPA 12 11 12 11 11 11 11 11 11 11

POP TUR

0001 TUR 11 11 12 12 12 11 11 11 11 11
0002 TUR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0003 TUR 11 11 12 11 12 11 11 11 11 11
0004 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0005 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0006 TUR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0007 TUR 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11
0008 TUR 11 11 11 11 12 11 11 12 11 11
0009 TUR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0010 TUR 11 11 12 12 12 11 11 11 11 11
0011 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 12 11
0012 TUR 12 11 12 12 12 11 11 11 11 11
0013 TUR 11 11 11 11 12 11 11 11 11 11

0014 TUR 12 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0015 TUR 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0016 TUR 11 12 12 11 12 11 12 11 11 11
0017 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0018 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0019 TUR 11 12 22 11 11 11 11 11 11 11
0020 TUR 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0021 TUR 11 12 22 22 11 11 11 11 11 11
0022 TUR 12 12 11 11 11 11 11 11 12 11
0023 TUR 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0024 TUR 11 12 11 12 11 11 11 11 11 11
0025 TUR 11 11 12 11 12 11 11 11 11 11
0026 TUR 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0027 TUR 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0028 TUR 11 11 11 11 11 11 11 12 11 11
0029 TUR 11 11 22 11 11 11 11 11 11 11
0030 TUR 12 11 11 11 11 11 11 11 11 11

POP TUM

0001 TUM 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0002 TUM 11 11 12 12 11 11 12 11 11 11
0003 TUM 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0004 TUM 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0005 TUM 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0006 TUM 12 11 11 12 11 11 11 11 12 11
0007 TUM 11 12 22 11 11 11 11 11 11 11
0008 TUM 11 11 12 11 11 11 11 11 11 11
0009 TUM 12 11 11 12 11 11 11 11 12 11
0010 TUM 11 11 12 11 11 11 12 12 11 11
0011 TUM 12 12 12 11 11 12 11 11 11 11
0012 TUM 11 12 12 11 11 11 11 12 11 11
0013 TUM 11 12 11 12 11 11 11 11 11 11
0014 TUM 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0015 TUM 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11

0016 TUM 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0017 TUM 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0018 TUM 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0019 TUM 11 11 12 12 11 11 11 11 11 11
0020 TUM 11 12 12 11 11 11 12 12 11 11
0021 TUM 11 11 22 12 11 11 12 11 11 11
0022 TUM 11 11 11 12 11 11 11 11 11 11
0023 TUM 11 12 12 11 11 11 11 12 11 11
0024 TUM 11 11 22 22 11 11 11 11 11 11
0025 TUM 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11
0026 TUM 11 11 11 22 12 11 12 11 11 11
0027 TUM 11 11 11 11 12 11 11 11 12 11
0028 TUM 11 11 11 22 11 11 11 11 11 11
0029 TUM 11 11 12 11 11 11 11 12 11 11
0030 TUM 11 11 11 11 11 11 11 11 12 11

ANEXO III – Genótipos obtidos a partir de oito locos para quatro populações de progênes maternas de *Baccharis trimera*.

POP UFSM

0001 USM 12 11 11 11 11 11 11 11
0002 USM 11 11 11 11 11 12 00 11
0003 USM 11 11 11 11 11 11 11 11
0004 USM 11 11 12 22 11 11 11 11
0005 USM 12 11 11 11 11 11 11 11
0006 USM 11 12 12 12 22 11 11 11
0007 USM 12 13 12 11 11 11 11 11
0008 USM 11 11 22 12 00 12 11 11
0009 USM 11 22 11 11 12 11 11 11
0010 USM 12 13 12 22 12 11 11 11
0011 USM 11 11 12 12 11 11 11 11
0012 USM 12 11 22 11 12 11 12 11
0013 USM 11 11 11 11 11 22 11 11
0014 USM 11 22 12 22 11 11 11 11
0015 USM 11 11 11 11 11 11 11 11
0016 USM 12 11 11 22 11 12 11 11
0017 USM 11 11 12 12 12 11 11 11
0018 USM 11 12 11 12 11 11 11 11
0019 USM 11 22 11 12 11 11 12 11
0020 USM 11 11 12 12 11 11 11 11
0021 USM 11 11 11 11 12 11 11 11
0022 USM 11 12 11 12 12 11 12 11
0023 USM 11 11 11 11 12 11 11 00
0024 USM 11 11 11 12 12 11 11 11
0025 USM 11 11 11 12 12 11 11 11
0026 USM 11 13 11 22 11 11 11 11
0027 USM 11 11 11 11 12 11 11 11
0028 USM 11 11 11 33 12 11 11 00
0029 USM 11 11 22 11 11 11 11 11

0030 USM 11 11 11 11 11 11 11 11
0031 USM 12 11 22 11 11 11 11 11
0032 USM 11 11 12 12 11 11 11 11
0033 USM 11 11 11 12 11 11 11 11
0034 USM 11 12 22 11 12 11 11 00
0035 USM 11 11 12 11 11 11 12 11
0036 USM 11 12 12 12 11 11 11 11
0037 USM 11 11 12 13 11 11 13 00
0038 USM 11 22 12 12 12 11 11 00
0039 USM 11 11 11 11 11 11 11 11
0040 USM 11 13 22 12 11 11 11 11
0041 USM 11 22 11 22 11 11 11 11
0042 USM 11 11 11 12 11 11 13 11
0043 USM 11 11 11 11 11 11 11 11
0044 USM 11 13 11 12 11 11 11 11
0045 USM 11 00 11 12 12 11 12 11
0046 USM 11 11 11 12 12 11 11 11
0047 USM 22 11 22 12 11 11 13 11
0048 USM 11 12 12 11 12 11 12 11
0049 USM 11 12 12 12 11 11 12 12
0050 USM 11 11 12 11 11 11 11 12
0051 USM 11 11 11 12 11 12 11 11
0052 USM 12 11 11 12 11 11 11 11
0053 USM 11 11 12 12 11 11 11 11
0054 USM 11 12 11 12 12 11 13 12
0055 USM 11 11 11 12 11 11 11 11
0056 USM 12 12 11 12 00 11 11 11
0057 USM 11 11 12 12 12 11 11 11
0058 USM 11 11 12 11 11 11 11 11
0059 USM 11 13 12 11 00 11 11 11
0060 USM 11 22 11 12 00 11 11 11
0061 USM 11 11 11 22 11 11 11 11
0062 USM 11 11 12 11 11 11 11 11

0063 USM 11 12 22 12 11 11 11 11
0064 USM 12 11 11 12 11 11 12 11
0065 USM 11 13 12 12 12 11 12 11
0066 USM 11 33 11 12 12 11 12 11
0067 USM 12 12 12 12 12 11 11 11
0068 USM 11 12 12 12 12 11 11 11
0069 USM 11 12 11 11 12 11 11 11
0070 USM 11 12 12 11 12 11 11 11
0071 USM 11 11 12 12 11 11 12 11
0072 USM 11 11 12 12 00 13 12 12
0073 USM 11 11 12 22 11 11 12 11
0074 USM 11 12 12 13 12 11 11 12
0075 USM 11 13 11 22 11 11 11 12
0076 USM 11 13 11 12 11 11 11 11
0077 USM 11 13 12 12 11 11 11 11
0078 USM 11 13 11 11 11 11 11 12
0079 USM 11 12 12 22 11 13 11 11
0080 USM 12 11 12 12 11 11 11 11
0081 USM 11 33 11 11 11 11 11 11
0082 USM 11 11 11 12 12 11 11 11
0083 USM 11 11 11 11 12 11 11 11
0084 USM 11 11 12 13 11 11 11 11
0085 USM 11 00 12 12 11 11 11 11
0086 USM 11 11 12 11 11 11 11 11
0087 USM 11 11 12 12 11 11 11 11
0088 USM 12 11 11 11 12 11 11 11
0089 USM 11 11 11 11 12 11 11 11
0090 USM 00 00 11 12 11 11 11 11
0091 USM 12 11 11 11 11 11 11 11
0092 USM 11 11 12 13 11 13 11 11
0093 USM 12 11 11 11 11 13 11 11
0094 USM 11 12 11 12 11 11 11 11
0095 USM 11 13 12 12 11 11 12 11

0096 USM 11 12 11 12 11 11 12 11
0097 USM 12 11 12 11 12 11 11 11
0098 USM 12 13 11 12 11 11 11 11
0099 USM 12 13 12 22 11 11 11 11
0100 USM 11 12 11 13 11 11 11 11

POP AGE

0001 AGE 11 11 11 12 11 11 12 11
0002 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0003 AGE 11 11 12 22 11 11 11 11
0004 AGE 11 11 12 12 11 11 12 11
0005 AGE 11 11 12 12 11 12 11 11
0006 AGE 11 12 11 12 12 11 11 11
0007 AGE 11 11 12 12 11 11 12 11
0008 AGE 11 12 12 12 11 11 11 11
0009 AGE 11 22 12 11 11 11 11 12
0010 AGE 11 22 22 13 11 12 11 11
0011 AGE 11 12 22 12 11 11 11 11
0012 AGE 11 11 12 12 11 11 11 11
0013 AGE 11 11 11 12 11 11 12 11
0014 AGE 11 12 11 12 11 11 12 11
0015 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0016 AGE.11 11 12 12 11 11 11 11
0017 AGE 11 11 11 22 11 11 11 11
0018 AGE 11 11 12 12 11 11 11 12
0019 AGE 11 11 12 11 11 11 12 11
0020 AGE 11 11 11 11 11 11 12 11
0021 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11
0022 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11
0023 AGE 11 11 22 11 11 11 12 11
0024 AGE.11 11 11 11 11 11 11 11
0025 AGE 11 11 11 11 11 11 11 11
0026 AGE 12 11 11 12 11 12 11 11
0027 AGE 11 12 11 33 11 11 11 11

0028 AGE 12 11 11 12 11 11 11 11
0029 AGE 11 12 12 11 11 11 11 11
0030 AGE 12 22 11 12 12 11 11 11
0031 AGE 12 11 11 22 12 11 11 11
0032 AGE 11 11 12 13 11 11 11 11
0033 AGE 11 11 12 13 12 11 11 11
0034 AGE 11 11 11 11 11 11 12 11
0035 AGE 11 11 22 12 11 11 12 11
0036 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0037 AGE 12 11 12 11 11 11 11 11
0038 AGE 11 11 11 12 11 12 11 11
0039 AGE 11 11 11 11 11 11 11 11
0040 AGE 11 11 22 13 11 11 11 11
0041 AGE 12 11 12 11 11 11 11 11
0042 AGE 22 12 11 12 11 11 11 11
0043 AGE 11 12 11 12 11 11 11 11
0044 AGE 12 11 12 11 22 11 11 12
0045 AGE 11 12 11 12 11 11 11 12
0046 AGE 12 12 12 11 11 11 11 12
0047 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11
0048 AGE 12 12 12 13 11 11 11 11
0049 AGE 11 12 11 12 11 11 11 11
0050 AGE 12 11 11 12 11 11 11 11
0051 AGE 11 11 12 12 11 11 11 11
0052 AGE 11 22 12 13 12 11 11 11
0053 AGE 12 11 11 12 12 11 11 11
0054 AGE 12 11 11 11 11 11 11 11
0055 AGE 11 11 12 11 22 11 11 11
0056 AGE 11 11 12 11 22 11 11 11
0057 AGE 11 11 12 11 11 11 11 11
0058 AGE 11 11 12 33 11 11 11 11
0059 AGE 11 11 12 13 11 11 11 11
0060 AGE 11 11 12 11 12 11 11 11

0061 AGE 11 11 12 12 11 11 12 11
0062 AGE 11 11 12 11 12 11 11 11
0063 AGE 12 11 12 12 11 11 12 11
0064 AGE 11 11 11 11 11 11 12 11
0065 AGE 12 22 12 11 11 11 11 11
0066 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0067 AGE 11 11 11 13 11 11 12 11
0068 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0069 AGE 12 11 11 12 11 11 11 11
0070 AGE 11 12 22 22 11 11 12 11
0071 AGE 11 11 22 13 11 11 12 12
0072 AGE 11 12 11 12 11 11 11 11
0073 AGE 11 12 12 22 11 11 11 11
0074 AGE 00 11 12 11 11 11 12 11
0075 AGE 11 12 12 22 11 11 12 11
0076 AGE 11 12 12 12 12 11 12 12
0077 AGE 11 11 12 12 12 11 12 11
0078 AGE 11 11 11 22 12 11 11 11
0079 AGE 11 12 11 12 11 11 11 12
0080 AGE 00 12 11 12 12 11 11 00
0081 AGE 12 12 11 12 22 11 11 11
0082 AGE 11 12 12 22 12 11 11 11
0083 AGE 11 12 12 22 11 11 12 11
0084 AGE 11 12 12 12 11 11 12 11
0085 AGE 11 11 22 11 11 11 11 11
0086 AGE 11 11 12 22 11 11 11 11
0087 AGE 11 11 12 11 11 11 12 11
0088 AGE 12 12 11 11 11 11 11 11
0089 AGE 11 11 11 12 11 11 11 11
0090 AGE 11 13 11 11 11 11 11 11
0091 AGE 11 11 12 12 12 11 12 11
0092 AGE 11 11 12 11 12 11 12 11
0093 AGE 11 11 12 11 12 11 11 12

0094 AGE 12 13 12 11 11 11 11 11
0095 AGE 12 11 12 11 11 11 11 11
0096 AGE 11 11 11 11 11 11 11 11
0097 AGE 11 11 11 11 11 11 11 11
0098 AGE 11 13 12 12 11 11 11 11
0099 AGE 12 11 12 12 11 11 11 11
0100 AGE 11 11 11 11 11 11 11 11

POP SVS

0001 SVS 11 13 11 11 11 11 11 11
0002 SVS 11 11 13 11 11 11 11 11
0003 SVS 11 12 22 11 13 11 11 11
0004 SVS 12 12 12 33 13 11 13 11
0005 SVS 11 13 12 12 13 11 13 11
0006 SVS 11 13 22 11 12 11 11 12
0007 SVS 11 11 13 13 13 11 11 11
0008 SVS 11 11 11 11 33 11 12 11
0009 SVS 11 11 22 12 33 11 12 13
0010 SVS 11 12 11 13 13 11 12 12
0011 SVS 11 11 12 11 11 11 12 12
0012 SVS 11 13 12 12 11 11 13 12
0013 SVS 11 11 12 12 11 11 11 12
0014 SVS 12 11 13 12 13 11 11 11
0015 SVS 12 11 13 22 11 11 11 11
0016 SVS 12 11 22 11 11 11 13 11
0017 SVS 12 11 12 12 11 11 11 12
0018 SVS 12 11 12 11 11 11 11 13
0019 SVS 11 11 11 22 12 11 12 22
0020 SVS 12 11 12 11 13 11 11 11
0021 SVS 12 11 12 00 12 11 11 11
0022 SVS 11 12 12 12 13 11 13 11
0023 SVS 11 11 12 11 13 11 11 11
0024 SVS 11 11 12 12 13 11 11 12
0025 SVS 11 11 12 22 11 11 12 00

0026 SVS 11 11 12 11 11 11 12 11
0027 SVS 00 11 11 12 11 11 11 11
0028 SVS 11 11 22 12 11 11 11 12
0029 SVS 11 11 11 12 11 11 11 11
0030 SVS 11 12 11 11 12 11 11 11
0031 SVS 11 12 22 11 11 11 11 11
0032 SVS 11 12 12 12 11 11 11 12
0033 SVS 11 12 11 12 22 11 11 11
0034 SVS 11 12 12 12 11 11 12 11
0035 SVS 11 12 13 12 13 11 11 11
0036 SVS 11 12 12 12 22 11 11 11
0037 SVS 11 22 12 11 22 11 12 11
0038 SVS 11 12 12 11 11 11 11 11
0039 SVS 11 12 12 11 11 11 11 11
0040 SVS 11 12 11 12 11 11 11 11
0041 SVS 11 12 22 12 12 11 11 11
0042 SVS 11 12 12 22 22 11 11 12
0043 SVS 11 13 22 11 11 11 11 13
0044 SVS 11 12 11 22 22 11 11 11
0045 SVS 11 12 11 22 11 11 11 11
0046 SVS 11 12 22 12 11 11 11 11
0047 SVS 11 12 22 11 11 11 11 11
0048 SVS 11 11 12 12 11 11 11 11
0049 SVS 11 11 11 12 11 11 11 11
0050 SVS 11 11 12 12 12 11 11 11
0051 SVS 11 11 12 11 12 11 11 11
0052 SVS 11 11 13 11 22 11 11 11
0053 SVS 11 12 11 12 12 11 12 11
0054 SVS 12 11 12 12 12 11 11 11
0055 SVS 11 11 12 12 22 11 11 11
0056 SVS 13 11 12 11 12 11 11 11
0057 SVS 11 11 12 12 12 11 12 12
0058 SVS 11 13 12 22 12 11 12 11

0059 SVS 11 12 11 12 12 11 11 11
0060 SVS 11 11 11 22 12 11 11 11
0061 SVS 11 12 11 12 11 11 11 11
0062 SVS 11 11 22 12 22 11 11 11
0063 SVS 11 11 11 22 22 11 11 12
0064 SVS 12 13 12 12 12 11 11 12
0065 SVS 12 12 12 11 12 11 11 12
0066 SVS 12 13 11 22 11 11 11 12
0067 SVS 11 11 11 12 13 11 11 12
0068 SVS 13 12 11 11 11 11 11 12
0069 SVS 11 12 13 13 11 11 11 13
0070 SVS 11 12 12 12 11 11 11 12
0071 SVS 13 12 12 12 12 11 11 12
0072 SVS 11 11 12 12 11 11 11 11
0073 SVS 13 11 11 12 12 11 12 12
0074 SVS 11 11 13 13 11 11 12 11
0075 SVS 11 11 13 13 12 11 12 11
0076 SVS 11 12 12 12 22 11 12 11
0077 SVS 11 11 12 12 22 11 12 11
0078 SVS 11 11 12 22 11 11 11 11
0079 SVS 12 12 12 22 11 11 11 11
0080 SVS 11 11 12 12 12 11 11 11
0081 SVS 11 12 12 12 12 11 11 11
0082 SVS 11 11 12 11 13 12 11 11
0083 SVS 11 11 12 11 11 11 11 11
0084 SVS 11 22 12 11 11 11 12 11
0085 SVS 13 12 12 11 11 12 11 11
0086 SVS 11 12 22 11 11 11 12 11
0087 SVS 12 12 11 11 12 11 12 11
0088 SVS 12 12 11 12 12 11 11 12
0089 SVS 13 12 22 12 12 11 11 13
0090 SVS 11 11 12 12 12 11 11 11
0091 SVS 12 11 12 22 11 11 11 11

0092 SVS 11 12 12 12 22 12 11 11
0093 SVS 13 12 12 11 11 11 11 13
0094 SVS 11 12 11 22 11 11 11 11
0095 SVS 11 12 12 11 11 11 11 11
0096 SVS 11 33 12 11 11 11 11 11
0097 SVS 12 11 11 11 11 12 11 11
0098 SVS 11 33 11 12 11 11 11 12
0099 SVS 12 11 11 12 11 11 11 11
0100 SVS 13 11 11 11 11 11 11 11

POP COR

0001 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0002 COR 11 12 12 11 11 11 11 11
0003 COR 11 11 12 11 12 11 11 11
0004 COR 11 12 11 12 11 11 12 11
0005 COR 11 11 22 13 11 11 12 11
0006 COR 11 11 11 13 11 11 11 11
0007 COR 11 11 11 11 12 11 12 11
0008 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0009 COR 11 11 12 12 00 11 12 11
0010 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0011 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0012 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0013 COR 11 11 11 22 12 11 11 11
0014 COR 11 11 22 22 11 11 12 11
0015 COR 11 11 12 12 12 11 12 11
0016 COR 11 12 12 11 11 11 11 11
0017 COR 11 12 11 13 11 11 12 11
0018 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0019 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0020 COR 11 11 22 13 11 11 11 11
0021 COR 11 11 12 11 11 11 12 12
0022 COR 11 12 11 12 11 11 11 11
0023 COR 11 12 11 12 11 11 11 11

0024 COR 11 11 11 12 12 11 12 11
0025 COR 11 11 12 12 12 11 11 11
0026 COR 11 11 12 12 11 11 12 22
0027 COR 11 12 12 11 12 11 11 11
0028 COR 11 12 11 22 12 11 11 11
0029 COR 11 11 11 22 11 11 11 11
0030 COR 11 12 11 12 11 11 11 11
0031 COR 12 12 11 11 11 11 12 11
0032 COR 12 11 11 11 12 11 11 11
0033 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0034 COR 11 12 12 12 11 11 12 11
0035 COR 11 12 12 12 11 11 12 11
0036 COR 11 11 11 22 12 11 12 11
0037 COR 11 11 12 12 12 11 11 11
0038 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0039 COR 11 11 22 12 11 11 11 11
0040 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0041 COR 12 12 11 11 11 11 11 11
0042 COR 11 11 11 22 11 11 11 11
0043 COR 11 11 12 12 12 11 11 11
0044 COR 11 12 12 12 12 11 12 11
0045 COR 11 12 12 11 11 11 11 11
0046 COR 11 12 22 12 11 11 11 11
0047 COR 11 11 22 22 11 11 12 11
0048 COR 11 11 12 12 11 11 12 11
0049 COR 11 11 12 12 11 11 12 11
0050 COR 11 12 12 12 11 11 11 11
0051 COR 11 12 11 12 11 11 12 11
0052 COR 12 11 12 12 11 11 11 11
0053 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0054 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0055 COR 11 11 12 12 12 11 11 11
0056 COR 11 12 12 11 12 11 11 11

0057 COR 11 12 12 11 11 11 12 11
0058 COR 11 11 11 22 11 11 11 11
0059 COR 11 11 11 11 12 11 11 11
0060 COR 11 11 11 11 12 11 11 11
0061 COR 11 11 22 13 11 11 11 11
0062 COR 11 12 11 11 11 11 11 11
0063 COR 11 12 11 11 11 11 12 11
0064 COR 12 11 12 11 11 11 12 11
0065 COR 11 12 12 11 11 11 11 11
0066 COR 11 11 12 11 12 11 12 11
0067 COR 11 11 12 11 12 11 11 11
0068 COR 11 12 11 11 12 11 11 11
0069 COR 12 11 11 12 12 11 11 11
0070 COR 11 11 11 12 11 11 11 11
0071 COR 12 11 11 12 11 11 11 11
0072 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0073 COR 12 11 22 12 11 11 12 11
0074 COR 11 12 11 12 12 11 11 11
0075 COR 11 11 22 11 11 11 11 11
0076 COR 11 11 12 22 11 11 11 11
0077 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0078 COR 12 11 12 11 11 11 11 11
0079 COR 11 12 12 22 11 11 11 11
0080 COR 11 11 11 11 12 11 11 11
0081 COR 11 12 11 22 11 11 11 11
0082 COR 12 11 12 12 11 11 11 11
0083 COR 12 11 12 11 11 11 11 11
0084 COR 11 11 11 12 11 11 11 11
0085 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0086 COR 12 11 11 11 11 11 11 11
0087 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0088 COR 11 11 12 12 11 11 11 11
0089 COR 11 11 11 11 11 11 11 11

0090 COR 12 22 11 11 11 11 11 12
0091 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0092 COR 11 12 11 11 11 11 11 11
0093 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0094 COR 11 11 11 12 11 11 11 11
0095 COR 11 11 11 11 11 11 11 11
0096 COR 11 11 11 12 11 11 11 11
0097 COR 11 11 22 12 11 11 11 11
0098 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0099 COR 11 11 12 11 11 11 11 11
0100 COR 00 11 11 11 11 11 11 11

ANEXO C – Zimogramas, em gel, para seis sistemas enzimáticos empregados em *Baccharis trimera*.

