

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MARINHA

**VARIAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO GÊNICA DE  
*PARACENTROTUS GAIMARDI* (BLAINVILLE, 1825)  
(ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) NO LITORAL  
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (BRASIL)**

**MICHELLE REZENDE DUARTE**



Foto: Oliveira. M.B.D

**NITERÓI, FEVEREIRO 2007**

**VARIAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO GÊNICA DE  
*PARACENTROTUS GAIMARDI* (BLAINVILLE, 1825)  
(ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) NO LITORAL  
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (BRASIL)**

**MICHELLE REZENDE DUARTE**

**ORIENTADORES:**

**DR. EDSON PEREIRA DA SILVA  
DR. ROBERTO CAMPOS VILLAÇA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Marinha da Universidade Federal Fluminense, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha.

**NITERÓI, FEVEREIRO 2007**

**D812** Duarte, Michelle Rezende

Variação e estruturação gênica de *Paracentrotus gaimardi* (Blainville, 1825) (Echinodermata: Echinoidea) no litoral do Estado do Rio de Janeiro (Brasil)./ Michelle Rezende Duarte. Niterói: [s.n.], 2007.

162 f. 12 il.

Dissertação (Mestrado em Biología Marinha)  
Universidade Federal Fluminense, 2007.

1. Equinodermo. 2. Genética de população. 3.  
Equinodermo – Litoral – Rio de Janeiro. 4. Eletroforese de  
Aloenzimas. I. Título

**CDD 593.95**

**MICHELLE REZENDE DUARTE**

**VARIAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO GÊNICA DE *PARACENTROTUS GAIMARDI* (BLAINVILLE, 1825)  
(ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) NO LITORAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (BRASIL)**

Banca Examinadora:

---

Dr. Carlos Alberto Conceição Andrade  
Universidade Federal Fluminense

---

Dr. Carlos Renato Rezende Ventura  
Museu Nacional / Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Dra. Gisele Lôbo-Hajdu  
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

---

Dr. Roberto Campos Villaça  
Universidade Federal Fluminense

**O Vento**

*posso ouvir o vento passar  
assistir à onda bater  
mas o estrago que faz  
a vida é curta pra ver  
eu pensei que quando eu morrer  
vou acordar para o tempo  
e para o tempo parar.  
um século, um mês  
três vidas e mais  
um passo  
pra trás?  
por que  
será?  
...  
vou pensar.*

*como pode alguém sonhar  
o que é impossível saber  
não te dizer o que eu penso  
já é pensar em dizer  
e isso, eu vi, o vento leva!  
não sei mas sinto que é como sonhar  
que o esforço pra lembrar  
é a vontade de esquecer  
e isso por quê?  
(diz mais)  
ú  
se a gente já não sabe mais  
rir um do outro, meu bem  
então o que resta é chorar  
e talvez  
se tem que durar  
vem renascido o amor  
bento de lágrimas.  
um século, três,  
se as vidas atrás são parte de nós  
e como será?*

*o vento vai dizer lento o que virá  
e se chover demais a gente vai saber,  
claro de um trovão,  
se alguém depois sorrir em paz.  
(só de encontrar...)*

*Rodrigo Amarante*

Para Dirce, Edson e Mariana.

---

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu professor, orientador, pai, irmão, amigo Edson, um homem que eu admiro muito e que confiou e acreditou em mim. Foi um orientador super presente, mesmo estando a um oceano de distância... não posso dizer que foi fácil, na verdade, foi muito difícil fazer este trabalho longe de você. Coletas fracassadas, problemas no trabalho de bancada, dificuldades na interpretação dos géis, dos resultados, análises estatísticas, enfim, tudo o que eu temia, e você, pacientemente, me indicando o caminho mais seguro para seguir. Como diz o sábio ditado popular: *“o que arde, cura; o que aperta, segura; o que marca, dura”*. A distância é muito grande e a saudade maior ainda mas, mesmo assim, estes dois anos foram muito importantes na minha vida, pois me fizeram amadurecer e crescer pessoalmente e profissionalmente. Obrigada por tudo!!!

Ao meu co-orientador Roberto Villaça, um imenso muito obrigada, por ter aceitado a responsabilidade de me orientar na ausência do Edson, tornando possível a realização deste trabalho. Agradeço também pela paciência durante as últimas correções.

Ao professor Renato Ventura, por ter sido o começo deste trabalho, pelas valiosas conversas e trocas de idéias, pelas ajudas nas coletas, pelas referências e pelas guloseimas das aulas de equino. Obrigada também por ter aceitado o convite para integrar a banca.

Ao professor Cacá, Carlos Alberto, um muito obrigada por estar na banca, pelas conversas sobre genética, evolução, morfometria, etc. Também agradeço pela atenção, carinho e preocupação com o nosso laboratório.

Agradeço a professora Gisele, por ter aceitado com tanta simpatia participar da banca.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Marinha pela possibilidade de fazer o curso e também a todos os professores, por tudo que aprendi nesses quatro anos de Biomar: Abílio, Aguinaldo, Bernardo, Cassiano, Carlos Eduardo, Cíntia, Edson, Fábio, Kelecom, Miriam, Renato, Roberto, Sergio, Valéria.

Agradeço à CAPES, pela bolsa concedida.

À Eunice, por sempre nos receber com muita atenção, carinho e paciência. Obrigada por tirar as minhas inúmeras dúvidas e sempre resolver todos os nossos problemas burocráticos.

Ao Ecidine, agradeço por toda ajuda durante as coletas, por ter sido além de motorista, mergulhador e amigo. Obrigada por ter deixado nossas saídas a campo mais divertidas e também pelo apoio nos momentos de fracasso.

A todos do Laboratório de Genética Marinha, principalmente aos que dividiram este período duro em que nosso chefe esteve longe: Ada, Chrystian, Carmen, Mari e Rosa. Obrigada pelo companheirismo, pelas conversas, pelos momentos que tivemos que falar sério, pelos momentos de descontração, pelo nosso chá das 17:00 (que ainda não foi com chá inglês...). Vocês foram muito importantes durante estes dois anos.

À minha amiga Rosa, um agradecimento super especial, por estar sempre por perto e por ter sido também um pouco orientadora e mãe. Obrigada pelas conversas, pelas broncas, por toda ralação nas coletas, pelas correções e também por sempre conseguir resolver todos os problemas.

À Carminha, minha amiga de coletas, bancada, disciplina, desespero, alegrias e também de copo... Muito obrigada pela ajuda nos momentos difíceis e também pela nossa saudosa cervejinha no final do dia no bar do Nando (proibida no momento por motivo de força maior, rs...).

Ao Chrystian, um muito obrigada pelas adoráveis conversas, pelas brincadeiras, pelo apoio e pelo carinho.

À minha amADA amiga desmiolADA e desnaturADA, que agora que foi para Fiocruz, quase não aparece mais. Adinha, agradeço por todo carinho, amizade, pelas conversas, pelas maluquices, pelo imprescindível socorro com as referências e também pela ajuda nas coletas (da Urca!!!) e pelas inúmeras tentativas de fazer coleta nos demais pontos (rs...).

À Mari, minha amiga mais que amiga, minha irmã que não é de sangue, mas é de coração. Companheira de todas as horas, que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, ninguém mais que você aturou o meu baixo astral, meu mau humor, minhas chatices. E também você esteve ao meu lado quando eu consegui me levantar. Obrigada



pelas nossas longas e superagradáveis conversas sobre os mais variados assuntos. Lógico que eu não podia deixar de agradecer pela participação direta neste trabalho: coletas, fotografia, dissecação, tradução, correção, formatação. Obrigada por tudo, não existe uma palavra que seja mais adequada para você do que AMIGA.

Aos amigos da turma 2005/01: Bruno, Isabel, Marcelo, Rachel, Sabrina, Suelen, Thiago, Wagner, e também Aline, que não é da turma, mas é como se fosse. À Sabrina um agradecimento especial, por todos os momentos que dividimos durante o mestrado.

Agradeço às minhas companheiras de quarto, Dani e Rebecca. Dani, minha advogada, obrigada pelas muitas noites sem dormir, me ouvindo, pacientemente, falar sobre assuntos tão estranhos ao seu dia a dia, como laboratório, eletroforeses e ouriços, e Rebecca, muito obrigada por ser uma grande amiga-parceira, nossa amizade, que cresceu neste período final em Niterói me deixou muito feliz.

Aos meus amigos do coração que também fazem parte desta conquista: Carol, Gi, Grazi, Leandro, Luisa, Marcos, Naête, Patrícia, Sílvia, Verônica.

À minha base, minha amada família, agradeço por todo carinho, amor, dedicação e confiança. Tudo o que sou eu devo a vocês.

À vó Diva, pelas conversas, pelo carinho e por estar me dando apoio para eu poder continuar lutando pelos meus sonhos.

Meus tios Elbson, Euzébio e Manuel, por serem tão presentes na minha vida, pelo amor e também pelo socorro financeiro nos momentos de sufoco.

Ao meu Pai<sub>drasto</sub> Paulo Roberto, pessoa que tanto amo, apesar de todas as nossas divergências.

A minha tia Elenice, minha segunda mãe, agradeço por todo carinho e dedicação, você é muito importante na minha vida

Ao meu irmãozinho, paixão da minha vida, agradeço por você existir, você foi meu lindo presente!

À minha mãe, mulher da minha vida, agradeço por todo carinho e amor que não cabem em palavras. Mamãe, você é muito especial. Muito obrigada por estar sempre ao meu lado, lutar e vibrar junto comigo, por acreditar e confiar em mim e no meu trabalho. Mãe, EU TE AMO!!!

---

**SUMÁRIO**

<b>Lista de figuras</b>	<b>xii</b>
<b>Lista de tabelas</b>	<b>xiii</b>
<b>Resumo</b>	<b>xv</b>
<b>Abstract</b>	<b>xvi</b>
<b>1- Introdução</b>	<b>17</b>
<b>1.1- <i>Paracentrotus gaimardi</i></b>	<b>18</b>
<b>1.2- Genética de populações</b>	<b>22</b>
<b>1.2.1- Marcadores moleculares</b>	<b>23</b>
<b>1.2.2- Variação gênica intrapopulacional</b>	<b>24</b>
<b>1.2.3- Variação gênica interpopulacional</b>	<b>24</b>
<b>1.3- Estruturação Genética: micro e macroescala</b>	<b>25</b>
<b>1.4- Problema a ser investigado</b>	<b>27</b>
<b>2- Objetivos</b>	<b>45</b>
<b>3- Material e Métodos</b>	<b>47</b>
<b>3.1- Coleta, transporte e armazenagem das amostras</b>	<b>48</b>
<b>3.2- Eletroforeses</b>	<b>53</b>
<b>3.2.1- Escolha de tecidos, enzimas e tampões</b>	<b>53</b>
<b>3.2.2- Homogeneização</b>	<b>55</b>
<b>3.2.3- Preparação dos géis</b>	<b>55</b>
<b>3.2.4- Corrida eletroforética</b>	<b>55</b>
<b>3.2.5- Revelação</b>	<b>56</b>
<b>3.2.6- Interpretação dos zimogramas</b>	<b>58</b>
<b>3.2.7- Fixação dos géis</b>	<b>58</b>
<b>3.3- Análise de dados</b>	<b>60</b>
<b>4- Resultados</b>	<b>64</b>
<b>5- Discussão</b>	<b>81</b>
<b>5.1- Equilíbrio de Hardy-Weinberg</b>	<b>82</b>
<b>5.2- Variação gênica intrapopulacional</b>	<b>84</b>

<b>5.3- Variação gênica interpopulacional</b>	<b>90</b>
<b>6- Conclusões</b>	<b>94</b>
<b>7– Referências Bibliográficas</b>	<b>96</b>
<b>Apêndices</b>	<b>116</b>
<b>Apêndice A</b>	<b>117</b>
<b>Apêndice B</b>	<b>126</b>
<b>Apêndice C</b>	<b>150</b>
<b>Apêndice D</b>	<b>160</b>

---

**LISTA DE FIGURAS**


---

<b>Figura 1:</b> <i>Paracentrotus lividus</i> _____	<b>19</b>
<b>Figura 2:</b> <i>Paracentrotus gaimardi</i> _____	<b>20</b>
<b>Figura 3:</b> Larva plúteo de <i>P. gaimardi</i> _____	<b>20</b>
<b>Figura 4:</b> Distribuição geográfica de <i>P. gaimardi</i> _____	<b>21</b>
<b>Figura 5:</b> Localização dos pontos de coleta de <i>P. gaimardi</i> no Estado do Rio de Janeiro _____	<b>50</b>
<b>Figura 6:</b> Pontos de coleta: 1) Urca; 2) Itaipu; 3) Ilha do Cabo Frio; 4) Forno – Arraial; 5).Prainha; 6) Forte; 7) Perú; 8) Forno – Búzios e 9) Ferradura _____	<b>51</b>
<b>Figura 7:</b> Órgãos de onde os tecidos usados nas corridas eletroforéticas foram extraídos _____	<b>54</b>
<b>Figura 8:</b> Resumo do método de eletroforese de aloenzimas _____	<b>59</b>
<b>Figura 9:</b> Distribuição das frequências alélicas pelos locais de coleta _____	<b>70</b>
<b>Figura 10:</b> Relação dos valores de $\log N_e m$ e $\log$ Distância (Km) para as populações de <i>P. gaimardi</i> duas a duas _____	<b>79</b>
<b>Figura 11:</b> Relação dos valores de $\theta/(1-\theta)$ e das distâncias geográficas (Km) para as populações de <i>P. gaimardi</i> duas a duas _____	<b>79</b>
<b>Figura 12:</b> Gráfico representativo do modelo neutralista ( $H \times N_e$ ) _____	<b>88</b>

---

**LISTA DE TABELAS**


---

<b>Tabela I:</b> Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações _____	<b>29</b>
<b>Tabela II:</b> Abreviatura dos locais de coleta, intensidade da ressurgência e coordenadas _____	<b>49</b>
<b>Tabela III:</b> Matriz de Distâncias geográficas entre os pontos de coleta de <i>P. gaimardi</i> (em Km) _____	<b>52</b>
<b>Tabela IV:</b> Sistemas de tampão utilizados _____	<b>53</b>
<b>Tabela V:</b> Enzimas usadas, com abreviações, número de comissão (nº E.C.), número de subunidades, número de <i>loci</i> interpretados, tampão e tecido utilizados ____	<b>54</b>
<b>Tabela VI:</b> Receitas dos sistemas de tampão usados para revelação _____	<b>56</b>
<b>Tabela VII:</b> Receitas dos sistemas enzimáticos revelados _____	<b>57</b>
<b>Tabela VIII:</b> Frequências alélicas _____	<b>68</b>
<b>Tabela IX:</b> Tamanho médio de amostra, número médio de alelos por <i>locus</i> , grau (%) de polimorfismo e heterozigosidades médias observadas e esperadas (Desvios-padrão entre parêntesis) _____	<b>74</b>
<b>Tabela X:</b> Heterozigosidades por <i>locus</i> _____	<b>75</b>
<b>Tabela XI:</b> Probabilidades (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $H_0$ : união de gametas ao acaso) _____	<b>76</b>
<b>Tabela XII:</b> Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham com os intervalos de confiança para as médias por <i>Jackknife</i> e <i>Bootstrap</i> _____	<b>77</b>
<b>Tabela XIII:</b> Valores de $\theta$ dois a dois abaixo da diagonal e número de migrantes por geração dois a dois acima da diagonal _____	<b>78</b>

**Tabela XIV:** Matriz de similaridade genética. Acima da diagonal: identidade genética; abaixo da diagonal: distância genética entre as populações \_\_\_\_\_ **80**

**Tabela XV:** Estimativa de  $N_{\mu}$  para alguns equinodermos \_\_\_\_\_ **89**

---

**RESUMO**

A variação e estruturação gênica da espécie de ouriços-do-mar *Paracentrotus gaimardi* foi investigada em nove populações ao longo de 160 Km da costa do Estado do Rio de Janeiro. Utilizando-se a técnica de eletroforese de aloenzimas foram analisados sete sistemas enzimáticos interpretados como nove *loci* gênicos ( $\alpha$ -Est1,  $\alpha$ -Est2,  $\alpha$ -Est3, Mdh, Pep, Pgi, Pgm, Sod e Xod). Os resultados revelaram um elevado nível de variação gênica intrapopulacional, contudo, comparável com aqueles encontrados para outros invertebrados marinhos. As heterozigosidades observadas variaram entre 0,123 (Forno-Búzios) a 0,205 (Itaipu), com média para todas as populações de 0,158. O modelo neutralista é a explicação mais adequada para os elevados níveis de variação gênica observados. Foram encontrados três desvios significativos: dois para o *locus* Mdh nas populações de Itaipu e Prainha e um no *locus*  $\alpha$ -Est-3 na população da Urca. A possível explicação para estes desvios é o endocruzamento. Nenhum *locus* apresentou evidência de estruturação e o  $\theta$  médio para todas as populações foi 0,0451, que é não significativo. Não foi encontrada nenhuma correlação significativa entre os valores de  $\theta$  (medidos como  $\theta/(1-\theta)$ ) e as distâncias geográficas. Dessa forma, é possível concluir que a dispersão dessa espécie tem sido suficiente para garantir o fluxo gênico na área amostrada.

---

**ABSTRACT**

Levels of genetic variation and population structure were investigated for the sea-urchin *Paracentrotus gaimardi* on a 160 km stretch of the coast of Rio de Janeiro. Allozymes electrophoresis was performed for seven enzymes encoding nine *loci* ( $\alpha$ -*Est1*,  $\alpha$ -*Est2*,  $\alpha$ -*Est3*, *Mdh*, *Pep*, *Pgi*, *Pgm*, *Sod* e *Xod*). Results revealed high levels of genetic variation compatible with those found for other marine invertebrates ( $H_o = 0.123-0.205$ ), and were parsimoniously explained by the neutralist model. Significant deviations from Hardy-Weinberg expectations were observed for *loci Mdh* (2 population) and  $\alpha$ -*Est-3* (1 population), probably due to inbreeding effect. None of the 8 polymorphic *loci* showed significant result for  $\theta$  as well as the average  $\theta$  for all *loci* overall populations (0.0451). Test for correlation between levels of population structure (measured as  $\theta/(1-\theta)$ ) and geographic distance also shown no significant results. Therefore, it is possible to conclude that dispersion in this species is an efficient mechanism to prevent population differentiation at the surveyed scale.



# **1- INTRODUÇÃO**

### **1.1- *Paracentrotus gaimardi***

O filo Echinodermata é composto por invertebrados exclusivamente marinhos que habitam, predominantemente, o infralitoral, são muito abundantes e morfologicamente diversificados (RUPPERT & BARNES, 1996; SMITH, 1992). São características da morfologia deste filo a simetria radial pentameral, o sistema hidrovacular celômico, tecido conjuntivo mutável e um esqueleto interno composto de ossículos calcários. Os equinodermos possuem cerca de 7.000 espécies que estão distribuídas em cinco classes: Asteroidea, Ophiuroidea, Crinoidea, Echinoidea e Holoturoidea (BRUSCA & BRUSCA, 2003).

Os organismos pertencentes à classe Echinoidea são equinodermos de movimentos livres comumente conhecidos como ouriços-do-mar e bolachas-da-praia, que desempenham um papel chave na dinâmica das comunidades bentônicas como consumidores de macrófitas. Os ouriços-do-mar são classificados como equinóides regulares ou radiais. O corpo é mais ou menos esférico e possuem espinhos móveis e relativamente longos que podem ser marrons, negros, castanhos, cinzas, roxos, verdes, rosas, brancos, vermelhos ou multicoloridos. A maioria dos ouriços-do-mar alimenta-se raspando algas, organismos incrustantes e detritos de superfícies duras (RUPPERT & BARNES, 1996).

O gênero *Paracentrotus*, que pertence à família Echinidae, é composto por apenas duas espécies: *P. lividus* (Lamarck, 1816) e *P. gaimardi* (Blainville, 1825) (MORTENSEN, 1943). A classificação completa do gênero *Paracentrotus* está listada abaixo:

**Filo:** Echinodermata

**Classe:** Echinoidea

**Subclasse:** Euechinoidea

**Ordem:** Echinoida

**Família:** Echinidae

**Gênero:** *Paracentrotus*

**Espécie:** *P. lividus*

**Espécie:** *P. gaimardi*

*Paracentrotus lividus* (Figura 1) é uma espécie típica do infralitoral, encontrado em profundidades que vão de 10 a 20m e suas carapaças podem atingir até 75mm de diâmetro. Apresentam coloração variada (roxo, vermelho, marrom e amarelo) e densidades populacionais variando entre 0,1 e 300 indivíduos/m<sup>2</sup>. Esta espécie é encontrada no Mar Mediterrâneo e no Nordeste do Oceano Atlântico (BOUDOURESQUE & VERLAQUE, 2001). Devido à sua importância econômica, existem muitos trabalhos publicados sobre esta espécie. Os trabalhos enfocam diversos aspectos, como ciclo reprodutivo (SANCHEZ-ESPAÑA *et al.*, 2004), variabilidade temporal e espacial (BARNES & CROOK, 2001a; HEREU *et al.*, 2004), determinantes de comportamento (BARNES & CROOK, 2001b), genética de populações (ARCULEO *et al.*, 1998; DURAN *et al.*, 2004a) entre muitos outros.



**Figura 1:** *Paracentrotus lividus*

(fonte: <http://www.louro.org/lagoa/indice2002/fotflorafauna/images/Paracentrotus%20lividus1.jpg>).

*Paracentrotus gaimardi* (Figura 2) é um ouriço-do-mar pequeno, sua carapaça atinge no máximo 42mm de diâmetro sendo levemente achatada na face oral, com espinhos frágeis e de cor variada: verde, preto, cinza, castanho ou rosa (TOMMASI, 1966). Esta espécie possui uma larva planctotrófica do tipo equinoplúteo (Figura 3), que é pelágica e se alimenta de organismos do plâncton. Esse tipo de larva possui uma alta

capacidade de dispersão, o que permite que esta espécie seja capaz de colonizar áreas distantes do local onde as larvas foram formadas (LOPES, 2006), como observado na espécie congênere *P. lividus* (BOUDOURESQUE & VERLAQUE, 2001).



**Figura 2:** *Paracentrotus gaimardi* (Foto: Oliveira, M.B.D.).



**Figura 3:** Larva plúteo (quatro braços) de *P. gaimardi* (Foto: LOPES, 2006).

Coletada freqüentemente em buracos escavados nos costões rochosos até cerca de 5m de profundidade, a espécie *P. gaimardi* compartilha, geralmente, este abrigo com outras espécies (TOMMASI, 1966). Este organismo distribui-se em parte do litoral do Brasil (Rio de Janeiro a Santa Catarina), Angola e Golfo da Guiné (África) (Figura 4).

A ocorrência de espécies da costa brasileira na costa africana pode ser observada, também, em outros ouriços-do-mar como *Eucidaris tribuloides*, *Diadema antillarum* e *Tripneustes ventricosus* (MORTENSEN, 1943).



**Figura 4:** Distribuição geográfica de *P. gaimardi* (Fonte: <http://maps.google.com/>).

As diferentes cores de espinhos encontradas em *P. gaimardi* caracterizam, nessa espécie, morfotipos que vivem em simpatria. DUARTE (2005) e DUARTE *et al.*, (2006) investigaram, utilizando o método de eletroforese de aloenzimas, se esses diferentes morfotipos poderiam ser espécies diferentes. Foram amostrados indivíduos dos cinco morfotipos em duas localidades (Itaipu, Niterói (RJ) e Prainha, Arraial do Cabo (RJ)). Os resultados mostraram que a coloração dos espinhos representa variação intraespecífica, uma vez que não foi encontrado nenhum *locus* diagnóstico, a estruturação entre os morfotipos não foi significativa e as identidades genéticas agruparam locais de coleta ao invés de morfotipos. Contudo, LOPES (2006) em estudo de comparação morfológica e compatibilidade gamética entre esses morfotipos evidenciou uma diferença significativa entre as proporções de pedicelárias por morfotipo, bem como uma incompatibilidade assimétrica dos cruzamentos do morfotipo

castanho com os demais (maior sucesso dos cruzamentos castanho x castanho), embora não tenha encontrado isolamento reprodutivo entre os morfotipos.

Em contraste com *P. lividus*, o que se sabe sobre qualquer aspecto da biologia de *P. gaimardi* é muito pouco, além dos estudos já citados, poucos trabalhos foram publicados sobre esta espécie. Foram desenvolvidos estudos sobre comportamento alimentar da espécie em Arraial do Cabo (RJ) comparando a distribuição deste organismo no costão com a distribuição de algas comuns no local. Esses estudos verificaram que *P. gaimardi* é um organismo generalista, mas consome, preferencialmente, as algas: *Plocamium brasiliense*, *Corallinaceae articuladas*, *Pterocladia capillacea* e *Ceranium sp.* (BOUDOURESQUE & YONESHIGUE, 1987; CAMPOS VILLAÇA & YONESHIGUE, 1987; CAMPOS VILLAÇA, 1988). BARCELLOS (2004) e VENTURA & BARCELLOS (2004) estudaram o ciclo reprodutivo e a morfologia de *P. gaimardi* para as populações de Arraial do Cabo (RJ), Itaipu (RJ) e Florianópolis (SC). Os resultados mostraram diferenças significativas no estágio de gametogênese e, também, nos parâmetros morfológicos entre as populações estudadas. Os autores sugeriram plasticidade fenotípica para explicar as diferenças encontradas.

## **1.2- Genética de populações**

A ciência que estuda a constituição genética dos grupos de indivíduos e como esta constituição pode mudar ao longo do tempo é a genética de populações (HARTL, 1980; FUTUYMA, 2002). Dessa forma, umas das tarefas da genética de populações é a descrição dos padrões de variação gênica das populações. A outra consiste na interpretação desses padrões.

Marcadores moleculares são muito utilizados para caracterizar a quantidade de variação genética presente nas populações naturais (variação intrapopulacional), bem como estimar o nível de estruturação das mesmas (variação interpopulacional). Com essas ferramentas, podem ser estimados vários parâmetros populacionais, como o grau de endogamia, a estratégia reprodutiva predominante, etc, todos relevantes para compreender e conservar a variabilidade gênica na natureza (CARLINI-GARCIA *et al.*, 2001; SOLFERINE & SELIVON, 2001).



### **1.2.1- Marcadores moleculares**

Marcadores moleculares são *loci* gênicos que possuem variação e podem ser usados para inferências a respeito dos padrões de diversidade espaço-temporais dos organismos (SILVA & RUSSO, 2000).

Antes da década de 1960, as técnicas usadas para medir variação eram muito limitadas, pois só eram capazes de detectar grandes variações, como polimorfismo de *locus* único ou mutações deletérias e, assim, apenas poucos organismos eram adequados para esses estudos. Com a publicação dos trabalhos de Hubby e Lewontin (HUBBY & LEWONTIN, 1966; LEWONTIN & HUBBY, 1966) com a mosca da fruta *Drosophila pseudoobscura* e de HARRIS (1966) com a espécie humana, foi estabelecido o método de eletroforese de aloenzimas para descrever a variação gênica presente em populações naturais. Este método permitiu estudos de genética de populações com, praticamente, todos os organismos.

O método de eletroforese de aloenzimas baseia-se na migração de partículas sob ação de uma corrente elétrica. Estas partículas são as proteínas que podem variar de acordo com a forma, o tamanho e a carga dos aminoácidos. Dos 20 aminoácidos conhecidos, cinco possuem carga elétrica: três positiva (arginina, histidina e lisina) e duas negativa (ácido glutâmico e ácido aspártico). Sabe-se, também, que a atividade (ou seja, a presença de algumas enzimas) pode ser visualizada em extratos simples de organismos através de coloração citoquímica. Tais fatos possibilitam que proteínas com carga elétrica diferentes tenham diferentes mobilidades eletroforéticas e possam ser visualizadas através de um padrão de bandas (SOLFERINE & SELIVON, 2001; SILVA, 2002).

Este método possui algumas limitações, como a baixa detecção da variação genômica (menos de 10% do DNA de eucariotos corresponde a genes estruturais que produzem proteínas) e a incapacidade de amostrar variação nos íntrons ou mutações silenciosas (30% das mudanças de base de aminoácidos não causam modificação na sequência de aminoácidos das proteínas) (NEVO, 1978). Entretanto, o maior problema do método pode estar associado ao fato de que a variação de aloenzimas diz respeito ao fenótipo e não ao genótipo (as proteínas são um produto dos genes). Os alelomorfos examinados são passíveis de alterações pós-transcricionais, alterações devido ao ambiente ou a fatores de estocagem (SILVA, 2002). Contudo, apesar dessas limitações, essa técnica é, ainda, a maneira mais direta e rápida de avaliar genotipicamente muitos *loci* com um grande número de indivíduos e continua sendo

amplamente utilizada em trabalhos de genética de populações (SOLFERINE & SELIVON, 2001; SILVA, 2002).

A partir da década de 80, ficou mais fácil verificar a variação presente no DNA com o desenvolvimento de técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*). Essa técnica pode ser usada para amplificar segmentos aleatórios do genoma (RAPD), seqüências repetitivas (microsatélites e minisatélites) e mutações pontuais (RFLP, SSCP e sequenciamento) (SOLÉ-CAVA, 2001; SILVA, 2002 e 2004). Contudo, embora crescendo rapidamente (KOHN *et al.*, 2006), grande parte do *corpus* de informações sobre os padrões de variação gênica das espécies vem, ainda, dos trabalhos com aloenzimas (LEWONTIN, 1991; SKIBINSKI, 1994; SILVA & RUSSO, 2000), o que confere a esses estudos um poder heurístico importante devido ao amplo painel de dados disponível para comparação.

#### ***1.2.2- Variação gênica intrapopulacional***

Para o estudo da variabilidade genética intrapopulacional, usa-se as freqüências gênicas e genotípicas, as heterozigosidades observadas e esperadas, o número de alelos por *locus*, o grau de polimorfismo e o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Em invertabrados marinhos, têm sido evidenciados altos níveis de variação gênica (BEAUMONT & BEVERIDGE, 1984; SCHAEFFER *et al.*, 1985; BENZIE & BALLMENT, 1994; DIEHL & BIESIOT, 1994; MANCHENKO *et al.*, 2000; MOBERG & BURTON, 2000; MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001; ADDISON & HART, 2004) e as explicações para isso estão relacionadas a duas teorias: Neutralismo e Selecionismo. Os neutralistas explicam a variação gênica como consequência de fatores estocásticos, enquanto que os selecionistas acreditam que a seleção natural é a principal força evolutiva atuante na manutenção do polimorfismo (SOLÉ-CAVA & THORPE, 1991; AYALA, 2000; VEUILLE, 2000; SILVA, 2002). Contudo, a efetiva contribuição de fatores como a seleção natural e a deriva genética na geração e manutenção da variação gênica nas populações naturais permanece, ainda, por ser definida (SOLÉ-CAVA & THORPE, 1991; AYALA, 2000; VEUILLE, 2000; SILVA, 2002).

#### ***1.2.3- Variação gênica interpopulacional***

A extensão da variação observada interpopulacionalmente resulta de um balanço de forças que produzem uma variação gênica local e forças que tendem a produzir uma



homogeneidade gênica. A mutação e a deriva gênica (em populações de tamanho finito) e a seleção natural (que favorece as adaptações às condições ambientais locais) são exemplos de forças evolutivas que levam à diferenciação das populações. Já migração, favorecendo o chamado fluxo gênico, se opõe à diferenciação. O balanço entre essas forças determina a escala e o padrão de divergência entre as populações (SLATKIN, 1987).

A dispersão de indivíduos ou gametas, com posterior participação na reprodução (migração) é um dos principais fenômenos que exercem influência na estruturação de organismos marinhos. O fluxo gênico, proveniente dos processos migratórios, promove a evolução quando espalha novas combinações de genes ou, freia a evolução, quando impede adaptações locais (SLATKIN, 1987). Apesar da aparente homogeneidade nos ambientes marinhos, populações de locais diferentes podem se diferenciar em macro, meso ou microescala devido à existência de barreiras geográficas e seleção após assentamento (HEDGECOCK, 1986).

### **1.3- Estruturação genética: micro e macroescala**

Muitos organismos marinhos passam por um estágio de crescimento pelágico que representa um meio de dispersão potencial. Organismos que possuem larvas planctônicas podem possuir um fluxo gênico elevado, porém, muitos estudos têm mostrado que a capacidade de dispersão pode não ser efetiva, pois alcança menores distâncias do que seria capaz (SLATKIN, 1987; SOLÉ-CAVA *et al.*, 1992). De acordo com BURTON (1983), a estrutura gênica das populações naturais de invertebrados marinhos não pode ser inferida apenas por seu potencial de dispersão. É necessário, também, avaliar o sucesso após a dispersão.

Muitos trabalhos abordam esta questão da estruturação em populações de invertebrados marinhos, alguns em escala local (microescala), outros em uma escala mais ampla (macroescala: > 1000 Km). Estes estudos tentam encontrar uma explicação para os diferentes níveis de estruturação.

Os trabalhos referentes à estruturação em microescala analisam, muitas vezes, uma única população e descrevem, apenas, a variação gênica intrapopulacional, negligenciando a questão da estruturação gênica. Como exemplo desta abordagem, podem ser citados os trabalhos de MATSUOKA *et al.*, (1991) com a espécie de estrela do mar *Coscinasterias acutispina* e MATSUOKA *et al.*, (1993) com a espécie de estrela do mar *Distolasterias nippon*. Outra abordagem em trabalhos de microescala é a

questão das diferenças genéticas entre morfotipos simpátricos, como é o caso do trabalho de TUTTLE & LINDAHL (1980) com o gênero de estrela do mar *Echinaster* e de SPONER *et al.*, (2001) com o ofiuróide *Amphipholis squamata*. O trabalho de FÉRAL *et al.*, (2001) com o ofiuróide *A. squamata* é um exemplo de estudo em microescala geográfica que se preocupou com a questão da estruturação gênica. Nesse caso, nove populações da França, incluindo diferentes morfotipos, foram amostradas em uma distância máxima de 1 Km para *loci* de RAPD. Os resultados demonstram que para 41% dos *loci* (34 *loci*), o valor de  $F_{ST}$  era elevado ( $0,250 > F_{ST} > 0,150$ ), enquanto que para 59% dos *loci* (47 *loci*) esse valor era moderado ( $0,150 > F_{ST} > 0,005$ ). O autor sugere que os elevados níveis de estruturação encontrados podem ser devido a diferenças entre os morfotipos de cor.

A maioria dos trabalhos publicados com invertebrados marinhos, contudo, amostra populações em uma macroescala. Nesses trabalhos, os níveis de estruturação variam consideravelmente entre os diferentes organismos.

McCOMARCK *et al.*, (2000) estudaram populações do ofiuróide *Amphiura filiformis* da Irlanda e da França, amostrando uma área de 1500 Km, aproximadamente. O marcador usado neste trabalho foi RAPD. O grau de estruturação foi não significativo ( $F_{ST} = 0,049$ ). DEBENHAM *et al.*, (2000) estudando populações do ouriço do mar *Strongylocentrotus franciscanus* em uma extensão de 3500 Km entre o Alasca e o México usando nDNA, encontraram, também, um índice de estruturação não significativo ( $F_{ST} = 0,008$ ). DURAN *et al.*, (2004a) amostraram populações de *P. lividus* do Oceano Atlântico e do Mar Mediterrâneo em uma extensão de 2550 Km usando como marcador mtDNA e, também, encontraram populações não significativamente estruturadas ( $F_{ST} = 0,0175$ ). Entretanto, ARNDT & SMITH (1998) estudando populações de pepinos do mar *Cucumaria miniata* (1700 Km) e *C. pseudocurata* (1800 Km), na costa oeste da América do norte usando mtDNA, encontraram que as populações de *C. miniata* não estavam significativamente estruturadas ( $F_{ST} = 0,05$ ), mas que as populações de *C. pseudocurata* estavam ( $F_{ST} = 0,97$ ). Esse estudo demonstra a relação esperada entre capacidade de dispersão e fluxo gênico, uma vez que *C. pseudocurata* não possui larva planctotrófica.

Outros trabalhos reportam estruturação em populações de invertebrados marinhos com larvas planctotróficas. WATERS & ROY (2004), por exemplo, estudando populações da estrela do mar *Patiriella regularis* ao longo de 2500 Km na Austrália e Nova Zelândia usando dois *loci* de mtDNA encontraram um valor de

estruturação moderado e significativo ( $F_{ST} = 0,072$ ), propondo que as diferenças observadas seriam resultado da ressurgência que ali ocorre. Nessa mesma região, SMITH (1988), estudando a espécie de mexilhão *Perna canaliculus* observou, também, diferenças entre as amostras coletadas mais ao norte e mais ao sul. O autor sugere que um dos motivos responsáveis por tais diferenças seria uma restrição ao fluxo gênico causada pela ação de correntes marinhas.

BENZIE (1999; 2000) estudou, respectivamente, 20 e 39 populações da estrela do mar *Acanthaster planci* ao longo de mais de 10000 Km entre os Oceanos Índico e Pacífico. Os marcadores moleculares utilizados nesse caso foram as aloenzimas. O grau de estruturação encontrado foi bastante alto e significativo ( $F_{ST} = 0,273$ ). Nesses casos, os índices de estruturação eram proporcionais a distância geográfica, seguindo o modelo de isolamento por distância, ou seja, as populações mais próximas geograficamente eram, também, as mais semelhantes geneticamente. NISHIDA & LUCAS (1988) estudaram populações dessa espécie na mesma região utilizando, também, aloenzimas. O nível de estruturação encontrado foi moderado e significativo ( $F_{ST} = 0,07$ ). Contudo, diferenças elevadas e significativas foram encontradas em populações próximas geograficamente ( $< 400$  Km). Foi sugerido pelos autores que maior homogeneidade em uma grande escala acompanhada por heterogeneidade em uma escala menor pode ser uma característica comum em organismos bentônicos com dispresão por larva planctotrófica, devido, possivelmente, a barreiras locais ao fluxo gênico.

A despeito da importância da questão da estruturação gênica em mesoescala, como evidência o trabalho de NISHIDA & LUCAS (1988), esse é um tema pouco abordado em trabalhos de genética de populações de invertebrados marinhos no geral (SIN *et al.*, 1990; GARDNER *et al.*, 1996) e de equinodermos (BENZIE & WAKEFORD, 1997; HUNT, 1993; UTHICKE *et al.*, 1998, 2001; VENTURA *et al.*, 2004), em particular.

#### **1.4- Problema a ser investigado**

Os equinodermos são um grupo de organismos muito utilizado em estudos de genética de populações. Com exceção da classe Crinóidea, há muitos trabalhos publicados neste assunto. Nesses estudos, são usados aloenzimas e DNA como marcadores para medir a variação gênica. O volume de trabalhos publicados com aloenzimas é maior que o volume publicado com técnicas baseadas em DNA. A Tabela

I apresenta uma amostra dos trabalhos publicados com equinodermos que utilizaram marcadores moleculares para investigar problemas tais quais:

- 1) Relação filogenética (FOLTZ & STICKLE, 1994; ARNDT *et al.*, 1996; HRINCEVICH & FOLTZ, 1996; HART *et al.*, 2003; KINJO *et al.*, 2004; WATERS *et al.*, 2004b);
- 2) Contribuição do tipo de reprodução predominante, para as classes Asteroidea, Holothuroidea e Ophiuroidea (UTHICKE *et al.*, 1998; UTHICKE *et al.*, 2001; KARAKO *et al.*, 2002; SKOLD *et al.*, 2002; HARAMOTO *et al.*, 2006);
- 3) Estrutura de populações em microescala, mesoescala e macroescala (SKÖLD *et al.*, 2003; HARAMOTO *et al.*, 2006; UTHICKE & BENZIE, 2000; UTHICKE & BENZIE, 2003).

O presente trabalho se dedica a realizar uma estimativa dos níveis de variação gênica intrapopulacional em populações de *P. gaimardi* no litoral do estado do Rio de Janeiro, bem como aborda um aspecto pouco estudado em invertebrados marinhos e equinodermos que é a estruturação em mesoescala geográfica. *P. gaimardi* é um organismo com larva planctotrófica e, portanto, com alto potencial de dispersão. Contudo, a área geográfica amostrada inclui locais afetados diretamente pelo fenômeno da ressurgência que ocorre em Arraial do Cabo (KNOPPERS *et al.*, 2002) que pode, em teoria, agir como uma barreira ao fluxo gênico. Dessa forma, o estudo da genética de populações da espécie *P. gaimardi* nessa região pode trazer informações interessantes para as questões referentes aos padrões de variação gênica em invertebrados marinhos no geral, bem como adicionar dados ao escasso conjunto de conhecimentos sobre a espécie *P. gaimardi* e o problema da estruturação gênica em mesoescala.

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações.

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>ASTEROIDEA</i>									
<i>Diplopteraster multiplas</i>	Estados Unidos	-	1	e	24	28.0	0.11	-	AYALA <i>et al.</i> , 1975
<i>Myxoderma sacculatum ectenes</i>			1	e	24	43.0	0.14		
<i>Nearchaster aciculous</i>			1	e	24	62.0	0.20		
<i>Pteraster jordani</i>			1	e	24	42.0	0.10		
<i>Othilia</i>	Golfo do México	-	3	e	16	54.0	0.26	-	TUTTLE & LINDAHL, 1980
<i>Asterina pectinifera</i>	Japão	1000 Km	1	e	15	6,66	Média	-	MATSUOKA, 1981
<i>Asterina batheri</i>			1		16	18,75	=	-	
<i>Asterina coronata japonica</i>			1		15	6,66	0,037	-	
<i>Asterina pseudoexigua pacifica</i>			1		13	7,69		-	
<i>Asterina minor</i>			1		14	0		-	
<i>Acanthaster planci</i>	Grande Barreira de Recifes, Austrália	1300 Km	7	e	13	77	0,225	0,019	NASH <i>et al.</i> , 1988
<i>Leptasterias hexactis</i>	Washington e Alasca	2000 Km	2	e	14	64,3	-	0,214	KWAST <i>et al.</i> , 1990
<i>Leptasterias epichlora</i>			2			50	-	0,287	
<i>Leptasterias aequalis</i>			1			42,9	-	-	

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Acanthaster planci</i>	Pacífico	> 10000 Km	10	e	14	71	0,200	0,072 (sig)	NISHIDA & LUCAS, 1988
<i>Coscinasterias acutispina</i>	Japão	-	1	e	30	16.7	0.06	-	MATSUOKA <i>et al.</i> , 1991
<i>Leptasterias hexactis</i>	Sudeste do Alasca	1300 Km	1	e	16	0,625	-	-	STICKLE <i>et al.</i> , 1992
<i>Leptasterias epichlora</i>			4		16	0,625	-	0,156 (nt)	
<i>Leptasterias polaris</i>			1		25	0,28	-	-	
<i>Evasterias troschelii</i>			2		25	0,44	-	0,023 (nt)	
<i>Pisaster ochraceus</i>			3		24	0,33	-	0,006 (nt)	
<i>Patiriella calcar</i>	Australia	230 Km	6	e	5	100	-	0,001 (ns)	HUNT, 1993
<i>Patiriella exigua</i>			11					0,462 (sig)	
<i>Distolasterias nippon</i>	Japão	-	1	e	26	38.5	0.17	-	MATSUOKA <i>et al.</i> , 1993
<i>Leptasterias hexactis</i>	América do Norte (Costa do Pacífico)	5000 Km	37	e	6	100	-	-	FOLTZ & STICKLE, 1994
<i>Leptasterias epichlora</i>								-	
<i>Leptasterias aequalis</i>								-	
<i>Leptasterias aspera</i>								-	
<i>Asterina pectinifera</i>	Japão	225 Km	2	e	23	41.3	0.11	-	MATSUOKA <i>et al.</i> , 1995

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Leptasterias hexactis</i>	Washington e Alasca	2000 Km	6	mt DNA 12S rRNA 16S rRNA	2	-	-	0,073 – 0,243 (nt)	FOLTZ <i>et al.</i> , 1996
<i>Leptasterias spp.</i>	Washington e Alasca	2000 Km	12	mt DNA 12S r RNA 16S r RNA	2	-	- Filogenia do complexo	-	HRINCEVICH & FOLTZ, 1996
<i>Acanthaster planci</i>	Grande Barreira de Recifes, Austrália	130 Km	6	e	9	100	-	0,001 (ns)	BENZIE & WAKEFORD, 1997
<i>Linckia laevigata</i>	Oceano Índico e Pacífico	> 10000 Km		mt DNA 12S r RNA 16S r RNA	2	-	-	0,062 (sig) – 0,224 (ns)	WILLIAMS & BENZIE, 1998
				e	7	100	0,368	0,002 (ns) – 0,106 (sig)	
<i>Acanthaster planci</i>	Oceano Índico e Pacífico	> 10000 Km	20	e	9	53,33	0,167	0,273 (sig)	BENZIE, 1999
<i>Acanthaster planci</i>	Oceano Índico e Pacífico	> 10000 Km	39	e	9	-	-	0,273 (sig)	BENZIE, 2000
<i>Coscinasterias muricata</i>	Australia	200 Km	14	mt DNA D-loop	1	-	0,81	0,1579 (sig)	PERRIN <i>et al.</i> , 2001
<i>Patiriella pseudoexigua</i>	Japão, Taiwan, Nova Zelândia	7000 Km	8	mt DNA COI	1	-	- IG – taxônomia	-	HART <i>et al.</i> , 2003
<i>Acanthaster planci</i>	Japão	100 Km	3	e	9	-	0.25	-	KATOH & HASHIMOTO, 2003
<i>Asterina pectinifera</i>	Japão	250 Km	5	e	23	36.5	0.12	-	MATSUOKA & ASANO, 2003

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Zoroaster fulgens</i>	Nordeste do Atlântico	1000 Km	5	mt DNA COI 16S	2	-	-	-	HOWELL <i>et al.</i> , 2004
18 sp. de Asteroidea	Oceano Pacífico	> 10000 Km	18	mt DNA 12S rDNA 16S rDNA n DNA 18S rDNA	3	-	-	-	MATSUBARA <i>et al.</i> , 2004
<i>Coscinasterias tenuispina</i>	Brasil	450 Km	6	e	9	76.0	0.33	0,051 (sig)	PAZOTO, 2004
<i>Coscinasterias tenuispina</i>	Brasil	150 Km	3	e	10	66,6	0,339	0,065 (sig)	VENTURA <i>et al.</i> , 2004
37 sp. de Asteroidea	Região Australasian	> 10000 Km	37	mt DNA COI 12S rDNA 16S rDNA	3	-	-	-	WATERS <i>et al.</i> , 2004a
<i>Patiriella oriens</i>	Australia	> 5000 Km	26	mt DNA COI	1	-	-	-	WATERS <i>et al.</i> , 2004b
<i>Patiriella occidens</i>				n DNA Actin	1	Relação filogenética do complexo			
<i>Patiriella medius</i>									
<i>Patiriella gunnii</i>									
<i>Patiriella regularis</i>	Austrália e Nova Zelândia	2500 Km	22	mt DNA 12Sr RNA 16S rRNA	2	-	-	0,072 (sig)	WATERS & ROY, 2004
<i>Coscinasterias acustipina</i>	Japão	700 Km	8	RAPD	1	-	-	-	HARAMOTO <i>et al.</i> , 2006
						Estruturação por neighbor-joining cluster algorithm baseado em DG			



**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	Fst	Referência
OPHIUROIDEA									
<i>Ophiomusium lymani</i>	San Diego	1 Km	2	e	15	53	0,166	-	AYALA & VALENTINE, 1974
<i>Ophiocoma pumila</i>	Jamaica	290 Km	1	e	5	-	-	-	MLADENOV & EMSON, 1990
<i>Ophiocomella ophiactoides</i>			1			-	-	-	
<i>Ophiactis savignyi</i>			1			-	-	-	
						Contribuição de reprodução sexuada e assexuada			
<i>Amphipholis squamata</i>	Pacífico Norte, Sudeste e Sudoeste; Oeste do Oceano Indico; Atlântico Nordeste, Sudeste e Noroeste	> 10000 Km	19	mt DNA COI	1	-	-	-	SPONER <i>et al.</i> , 1998
						Discute os valores de IG			
<i>Ophiotrix quinque maculata</i>	Mediterrâneo, Mar Adriático e Mar de Irish	3000 Km	1	mt DNA 16S rDNA	1	-	-	-	BARIC & STURMBAUER, 1999
<i>Ophiotrix fragilis</i>			2			-	-	-	
						Estudo de relação filogenética			
<i>Amphipholis squamata</i>	Itália	360 m	4	RAPD	1	-	-	-	FÉRAL <i>et al.</i> , 2000
						Mostra uma figura com a relação entre os grupos			
<i>Amphiura filiformis</i>	Irlanda e França	1500 Km	2	RAPD	1	-	-	0,049 (ns)	McCOMARCK <i>et al.</i> , 2000

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Amphipholis squamata</i>	França	1 Km	9	RAPD	81	-	-	Elevado (0,250 > F <sub>ST</sub> > 0,150), para 34 loci e moderado (0,150 > F <sub>ST</sub> > 0,005) para 47 loci	FÉRAL <i>et al.</i> , 2001
<i>Amphipholis squamata</i>	França	-	1	mt DNA 16S rRNA n DNA ITS	2	-	-	-	SPONER <i>et al.</i> , 2001
						Estuda Color morphs – IG			

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<b>HOLOTHUROIDEA</b>									
<i>Cucumaria curata</i>	América do Norte (Alasca até Califórnia)	4800 Km	1	mt DNA COI 1rRNA	2	-	-	-	ARNDT <i>et al.</i> , 1996
<i>Cucumaria lubrica</i>			1						
<i>Cucumaria piperata</i>			1						
<i>Cucumaria pallida</i>			1						
<i>Cucumaria miniata</i>			1						
<i>Cucumaria pseudocurata</i>			1						
<i>Cucumaria vegae</i>			1						
<i>Pseudocnus astigmatus</i>			1						
<i>Pseudocnus californicus</i>			1						
<i>Psolus chitonoides</i>			1						
<i>Pentamera lissoplaca</i>			1						
<i>Eupentaca quinquesemita</i>			1						
<i>Pseudostichopus mollis</i>			1						
<i>Parastichopus parvimensis</i>			1						
<i>Parastichopus californicus</i>			1						

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	Fst	Referência
<i>Cucumaria miniata</i>	Costa Oeste Norte Americana	1700 Km	5	mt DNA srRNA	1	-	-	0,05 (ns)	ARNDT & SMITH, 1998
<i>Cucumaria pseudocurata</i>		1800 Km	11			-	-	0,97 (sig)	
<i>Holothuria (Halodeima) atra</i>	Grande Barreira de Recifes, Australia	170 Km	4	e	5	85.0	0.41	0,091 (sig)	UTHICKE <i>et al.</i> , 1998
<i>Stichopus chloronotus</i>	Grande Barreira de Recifes, Australia	44 Km	6	e	5	73.3	0.36	Machos: 0,229 (sig) Fêmeas: 0,038 (ns)	UTHICKE <i>et al.</i> , 1999
<i>Holothuria (Microthele) nobilis</i>	Grande Barreira de Recifes, Austrália	1300 Km	15	e	7	99,06	0,287	0,0024 (ns)	UTHICKE & BENZIE, 2000
<i>Holothuria atra</i>	La Reunion, Oceano Índico, e Torres Strait, Austrália	170 Km	4	e	6	87.5	0.42	0,060 (ns)	UTHICKE <i>et al.</i> , 2001
<i>Stichopus chloronotus</i>			5		5	36.0	0.19	0,306 (ns)	
<i>Holothuria scabra</i>	Australia	2000 Km	9	e	7	87,28	0,288	0,088 (sig)	UTHICKE & BENZIE, 2001
<i>ECHINOIDEA</i>									
<i>Arbacia punctulata</i>	Estados Unidos	1.500 Km	4	e	12	41,66	0,157	-	MARCUS, 1977
<i>Eucidaris (2sp)</i>	Istimo do Panamá	> 10.000 Km	-	e	13	-	-	-	LESSIOS, 1981
<i>Diadema (2sp)</i>									
<i>Echinometra (3sp)</i>									
Discute os resultados de Lassios, 1979									

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Toxopneustes pileolus</i>	Japão	1750 Km	1	e	19	5			MATSUOKA, 1985
<i>Tripneustes gratilla</i>			1		18	11	Estudo de taxonomia		
<i>Pseudoboletia maculata</i>			1		18	5			
<i>Pseudocentrotus depressus</i>			1		19	0			
<i>Echinostrephus aciculatus</i>	Japão	1050 Km	2	e	26	10.3	0.03	-	MATSUOKA & SUZUKI, 1987
<i>Echinostrephus molaris</i>			1	e	26	10.3	0.03	-	
<i>Diadema setosum</i>	Japão	1500 Km	3	e	27	8,6	0,035	-	MATSUOKA, 1989
<i>Diadema savigny</i>			1		27	7,7	0,035	-	
<i>Echinotrix calamaris</i>			2		27	9,25	0,0415	-	
<i>Echinotrix diadema</i>			1		26	8,0	0,035	-	
<i>Anthocidaris crassispina</i>	Japão	1470 Km	6	e	26	19.2	0.06	-	MATSUOKA & SUZUKI, 1989
<i>Glyptocidaris crenularis</i>	Japão	-	1	e	31	16.1	0.07	-	MATSUOKA & NAKAMURA, 1990
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Populações do Pacífico e do Atlântico	1500 Km		mt DNA RFLP (13 enzimas de restrição)	1	-	-	0,176 (ns)	PALUMBI & WILSON, 1990
<i>Strongylocentrotus dreobachiensis</i>		> 10000 Km				-	-	0,47 (sig)	

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	América do Norte (Alasca até Washington)	1500 Km	5	e	2	-	-	<i>Pgi</i> = 0,0052	STICKLE <i>et al.</i> , 1990
<i>Strongylocentrotus pallidus</i>			2					(ns) <i>Mdh-2</i> = 0,0343 (ns)	
<i>Echinometra mathaei</i>	Australia	1300 Km	9	e	4	100	0,089 - 0,762	0,0127 (ns)	WATTS <i>et al.</i> , 1990
<i>Glyptocidaris crenularis</i>	Japão	530 Km	1	e	35	16.1	0.07	-	MATSUOKA & NAKAMURA, 1991
<i>Stomopneustes variolaris</i>			2	e	35	9.1	0.04	-	
<i>Strongylocentrotus pallidus</i>	Pacífico Norte e Atlântico Norte	> 10000 Km	3	mt DNA COII COI	2	-	-	-	PALUMBI & KESSING, 1991
Estuda o tempo de divergência entre as populações									
<i>Heliocidaris tuberculata</i>	Australia	1000 Km	2	mt DNA RFLP (10 enzimas de restrição)	1	-	-	0,1171 (ns)	McMILLAN <i>et al.</i> , 1992
<i>Heliocidaris erythrogramm</i>		3400 Km	5			-	-	0,6218 (sig)	

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Eucidaris thouarsi</i>	Panamá	> 10000 Km	2	e / mtDNA RFLP (26 enzimas de restrição)	23 loci enzimáticos / 1	-	-	-	BERMINGHAM & LESSIOS, 1993
<i>Echinometra vanbrunti</i>	(Pacífico) e		2						
<i>Diadema mexicanum</i>	México		2						
<i>Eucidaris tribuloides</i>	(Pacífico)		2						
<i>Echinometra viridis</i>	Panamá		2						
<i>Echinometra lucunter</i>	(Atlântico) e		2						
<i>Diadema antillarum</i>	Porto Rico		2						
<i>Abatus cordatus</i>	Antártica	40 Km	17	e	2	100	-	$P_{gi} = 0,069$ (sig) $H_k = 0,102$ (sig)	POULIN & FÉRAL, 1993
<i>Echinocardium cordatum</i>	Atlântico (Europa) e Mediterrâneo	1000 Km	6	e	4	100	-	0,244 (sig)	FÉRAL <i>et al.</i> , 1995
<i>Heliocidaris tuberculata</i>	-	-	-	rRNA	1	-	-	-	HAHN <i>et al.</i> , 1995
<i>Heliocidaris erythrogramma</i>	-	-	-	nDNA Cyl	-	-	-	-	
<i>Strongylocentrotus nudus</i>	Japão	225 Km	2	e	33	18.2	0.06	-	MATSUOKA <i>et al.</i> , 1995

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	Fst	Referência
<i>Echinometra sp. nov. A</i>	Oceânico Pacífico	4500 Km	6	mtDNA COI	1	-	-	0,39 (sig)	PALUMBI, 1996
<i>Echinometra mathaei</i>			7						
<i>Echinometra oblonga</i>			5						
<i>Echinometra sp. nov C.</i>			5						
<i>Echinometra mathei</i>	Oeste do Pacífico	10000 Km	4	mt DNA COI	1	-	-	0.389 (sig)	PALUMBI <i>et al.</i> , 1997
<i>Echinometra oblonga</i>			4			-	-	0.306 (sig)	
<i>Echinocardium cordatum</i>	Marseille	-	1	e	1	100	-	-	FÉRAL <i>et al.</i> , 1998
<i>Echinocardium fenauxi</i>			1				-	-	
<i>Abatus cordatus</i>	Ilha kerguelen	300 Km	16	e	2	-	-	-	POULIN & FERAL, 1998
						IG entre as populações			
<i>Strongylocentrotus franciscanus</i>	Entre Alasca e México	3500 Km	6	n DNA	1	-	-	< 0,008 (ns)	DEBENHAM <i>et al.</i> , 2000a



**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Echinometra lucunter</i>	Panamá, Belize, Honduras, Porto Rico, Brasil, Ilha de Ascensão, Santa Helena, Golfo de Guiné e África	> 10000 Km	11	mt DNA COI	1	-	-	0.261 (sig)	McCARTNEY <i>et al.</i> , 2000
<i>Echinometra vanbrunti</i>	Galápagos, Panamá e México	4700 Km	4			-	-	0.057 (ns)	
<i>Echinometra viridis</i>	Panamá, Honduras, Porto Rico	2700 km	5			-	-	0.361 (sig)	
<i>Strongylocentrotus franciscanus</i>	Estados Unidos	550 Km	25	e	6	-	0.34	0.033 (sig)	MOBERG & BURTON, 2000
<i>Echinocardium cordatum</i>	Europa (Oceano Atlântico e Mar Mediterrâneo)	3000 Km	5	mt DNA 16S rRNA	1	-	- Estudo de filogenia	-	CHENUIL & FERAL, 2001
<i>Strongylocentrotus nudus</i>	Mar do Japão	300 Km	1	e	17	52.9	0.13	-	MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001
<i>Strongylocentrotus intermedius</i>			1		19	47.4	0.24	-	
<i>Strongylocentrotus pallidus</i>			1		17	35.3	0.24	-	

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Evechinus chloroticus</i>	Australia	200 Km	28	n DNA C29 C1 A13 B14 G29 A34	6	-	0,58	0,0057 (sig)	PERRIN <i>et al.</i> , 2001
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	California	337 Km	17	mt DNA COI	1	-	-	0,0001 (ns)	FLOWERS <i>et al.</i> , 2002
<i>Loxechinus albus</i>	Chile	2000 Km	3	e	21	42,8	-	0,021 (nt)	ESPEJO <i>et al.</i> , 2003
<i>Tripneustes ventricosus</i>	Atlântico	> 10000 Km	26	mt DNA COI	1	-	-	0,83 (sig)	LESSIOS <i>et al.</i> , 2003
<i>Tripneustes depressus</i>	Pacífico leste					-	-	0,093 (sig)	
<i>Tripneustes gatilla</i>	Indo-Pacífico central e oeste					-	-		
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	Canadá	750 Km	10	n DNA microsatellite	4	-	0.71	0.0016 (ns)	ADDISON & HART, 2004

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Colobocentrotus mertensii</i>	-	-	1	mt DNA	2	-	-	Estuda relação filogenética entre os 14 taxa	KINJO <i>et al.</i> , 2004
<i>Colobocentrotus atratus</i>			1	ND1 ND2					
<i>Heterocentrotus mammilatus</i>			1						
<i>Heterocentrotus trigonarius</i>			1						
<i>Echinometra lucunter</i>			1						
<i>Echinometra vanblunti</i>			1						
<i>Echinometra mathaei</i>			1						
<i>Echinometra oblonga</i>			1						
<i>Echinometra sp.A</i>			1						
<i>Echinometra sp.C</i>			1						
<i>Anthocidaris crassispina</i>			1						
<i>Heliocidaris tuberculata</i>			1						
<i>Echinostrephus aciculatus</i>			1						
<i>Echinostrephus molaris</i>			1						

**Tabela I:** Lista de trabalhos publicados com equinodermos sobre genética de populações (continuação).

Espécie	Local	Dist. total	Nº Pop	Téc. util.	Nº loci	P	H <sub>obs</sub>	F <sub>st</sub>	Referência
<i>Arbacia lixula</i>	Brasil	150 Km	3	e	10	90,0	0,354	0,016 (ns)	PINHEIRO, 2005
<b>PARACENTROTUS</b>									
<i>Paracentrotus lividus</i>	Itália Grécia	1000 Km	1 1	e	20	25	0,081 0,084	0,008 (sig)	ARCULEO <i>et al.</i> , 1998
<i>Paracentrotus lividus</i>	Atlântico e Mediterrâneo	2550Km	12	mt DNA COI	1	-	-	0,0175 (ns)	DURAN <i>et al.</i> , 2004a
<i>Paracentrotus gaimardi</i>	Brasil	150 Km	3	e	10	80	0,228	0,0296 (ns)	DUARTE, 2005
<i>Paracentrotus gaimardi</i>	Brasil	160 Km	9	e	9	65,45	0,158	0,0451 (ns)	ESTE ESTUDO
Legenda: nt = não testado; ns = não significativo; sig = significativo									

## **2- OBJETIVOS**

- \* Descrever a variação gênica da espécie *Paracentrotus gaimardi* no litoral do Estado do Rio de Janeiro;
- \* Descrever os níveis de estruturação gênica de *P. gaimardi* em uma escala mesogeográfica.

### **3- MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1– Coleta, transporte e armazenagem das amostras**

Indivíduos da espécie *Paracentrotus gaimardi* foram coletados nos meses de Maio de 2005 a Março de 2006 em sete pontos no Estado do Rio de Janeiro: Ferradura e Forno – Armação dos Búzios; Forno e Ilha de Cabo Frio - Arraial do Cabo; Forte e Però – Cabo Frio; e Praia Vermelha, Rio de Janeiro (Tabela II e Figuras 5 e 6). Neste trabalho, foram usados, também, dados de indivíduos coletados nos meses de Setembro a Dezembro de 2004 em três pontos no Estado do Rio de Janeiro: Ferradura – Armação dos Búzios; Itaipu – Niterói; e Prainha - Arraial do Cabo (Tabela II e Figuras 5 e 6).

A maior distância entre os locais onde as populações foram amostradas é de aproximadamente 160 Km de costa. A Tabela III mostra as distâncias geográficas entre as populações de *P. gaimardi* amostradas.

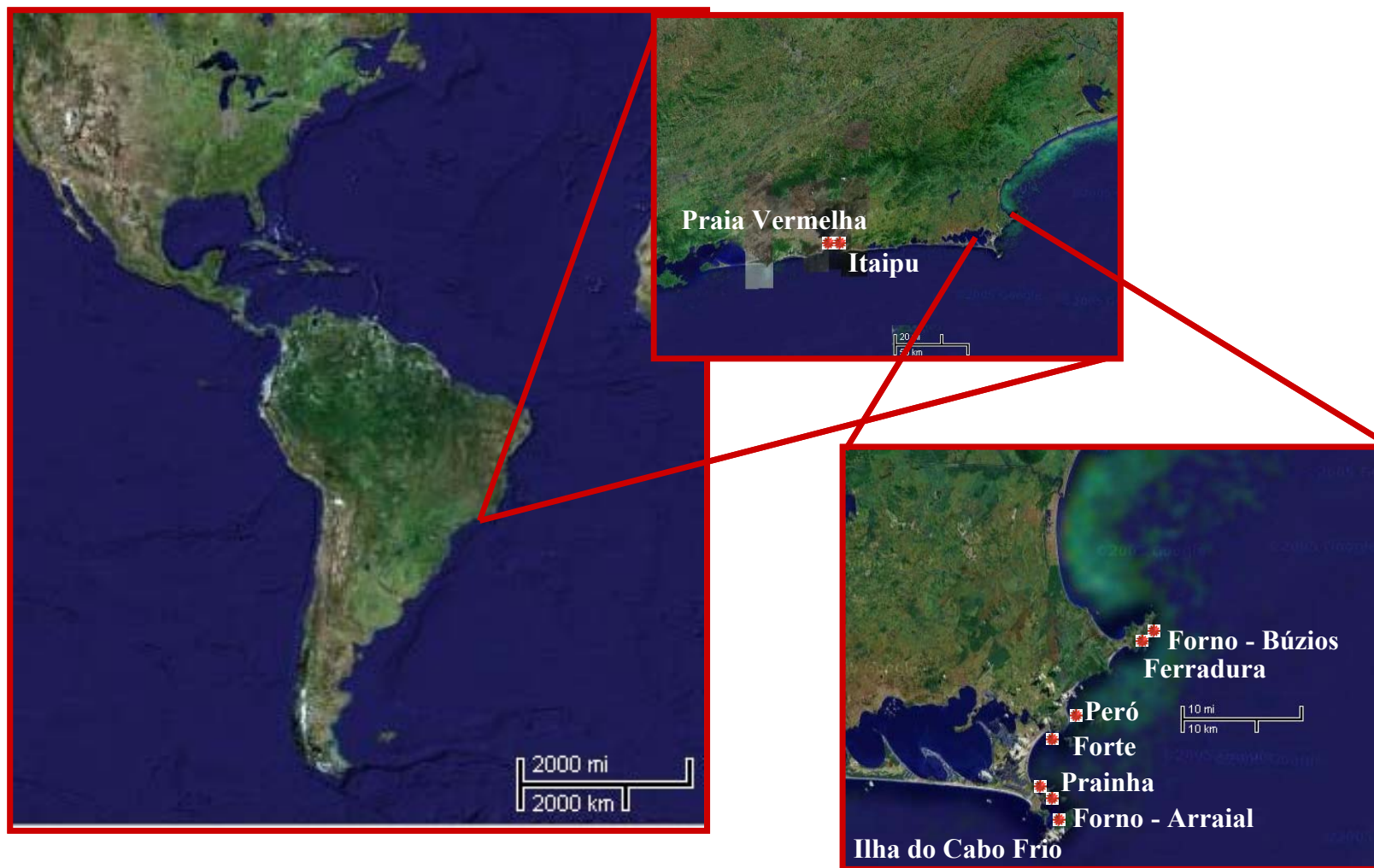
Os indivíduos foram coletados por mergulho livre e levados vivos em um recipiente com água do mar até o laboratório onde foram dissecados. Os tecidos foram lavados com água do mar, etiquetados e armazenados em freezer a – 20°C.



**Tabela II:** Abreviaturas dos locais de coleta, intensidade da ressurgência e coordenadas.

<b>Locais de coleta</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Intensidade da Ressurgência</b>	<b>Latitude*</b>	<b>Longitude*</b>
<b>Itaipu</b>	ITA	Moderada	22°59'S	43°04'W
<b>Praia</b>	PRA	Moderada/Fraca	22°57'S	42°00'W
<b>Ferradura</b>	FER	Forte	22°45'S	41°53'W
<b>Forno – Búzios</b>	FBZ	Forte	22°45'S	41°52'W
<b>Forno – Arraial</b>	FAR	Moderada/Fraca	23°S	42°00'W
<b>Ilha de Cabo Frio</b>	ILH	Moderada	23°S	42°00'W
<b>Praia Vermelha</b>	PRV	Moderada	22°56'S	43°11'W
<b>Peró</b>	PER	Moderada/Forte	23°S	40°W
<b>Forte</b>	FOR	Moderada	22°52'S	40°W

\*Fonte: <http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>



**Figura 5:** Localização dos pontos de coleta de *P. gaimardi* no estado do Rio de Janeiro (Fonte: <http://maps.google.com/>).



Fonte: [http://static.flickr.com/85/257794072\\_59ec36cdc0.jpg](http://static.flickr.com/85/257794072_59ec36cdc0.jpg)



Fonte: [http://www.belezanativa.hpg.ig.com.br/imagens/fotos/Praia\\_do\\_Forno.jpg](http://www.belezanativa.hpg.ig.com.br/imagens/fotos/Praia_do_Forno.jpg)



Foto: Souza, R.C.C.L.



Foto: Oliveira, M.B.D.



Fonte: [http://www.arraial.rj.gov.br/turismo/foto\\_galerias/Praias/images/prainha\\_00.jpg](http://www.arraial.rj.gov.br/turismo/foto_galerias/Praias/images/prainha_00.jpg)



Foto: Oliveira, M.B.D.



Foto: Lopes, B.A.



Foto: Oliveira, M.B.D



Foto: Oliveira, M.B.D.

**Figura 6:** Pontos de coleta: 1) Praia Vermelha; 2) Itaipu; 3) Ilha do Cabo Frio; 4) Forno – Arraial; 5).Prainha; 6) Forte; 7) Però; 8) Forno – Búzios e 9) Ferradura.

**Tabela III:** Distâncias geográficas entre os pontos de coleta de *P. gaimardi* (em Km).

<b>População</b>	<b>ITA</b>	<b>PRA</b>	<b>FER</b>	<b>FBZ</b>	<b>FAR</b>	<b>ILH</b>	<b>PRV</b>	<b>PER</b>	<b>FOR</b>
<b>ITA</b>	****	111	143	140	109	107	10	123	118
<b>PRA</b>		****	32	29	2	5	121	12	7
<b>FER</b>			****	3	34	37	153	20	25
<b>FBZ</b>				****	31	34	150	17	22
<b>FAR</b>					****	2	119	14	9
<b>ILH</b>						****	117	17	12
<b>PRV</b>							****	133	128
<b>PER</b>								****	5
<b>FOR</b>									****

### 3.2- Eletroforeses

#### 3.2.1 Escolha de tecidos, enzimas e tampões

A primeira etapa do trabalho eletroforético é a determinação dos melhores tecidos, tampões e sistemas enzimáticos para o organismo estudado. A única maneira de se determinar quais tampões são mais efetivos para uma dada enzima, de um dado organismo, é empiricamente. Para tanto, são necessários experimentos fatoriais do tipo “tecido X enzima X tampão”. Estes testes foram previamente realizados por DUARTE (2005). Nessa dissertação, foram usados 3 sistemas de tampão (Tabela IV) para 7 sistemas enzimáticos (Tabela V) e dois tecidos (músculo da lanterna e intestino – Figura 7) que apresentaram melhor resolução nos testes preliminares.

**Tabela IV:** Sistemas de tampão utilizados.

Tampão	Receita		Referência
	Eletrodos	Gel	
Tris-citrato borato (Poulik)	Ácido bórico 18,55 g	Trizma base 9,21 g	POULIK, 1957
	Hidróxido de sódio 2,4g	Ácido cítrico 1,05 g	
	Água destilada 1,0 L (pH 8,1)	Água destilada 1,0 L (pH 8,7)	
Tris-EDTA maleato (TEM)	Trizma base 12,1 g	20 mL do tampão do	BREWER, 1970
	Ácido Maleico 11,6 g	eletrodo em 200 mL de	
	Cloreto de Magnésio 2,0 g	água destilada	
	EDTA 2,9 g Água destilada 1,0 L (pH 7,4)		
Tris-hidróxido de lítio pH 8,0 (TliOH)	Hidróxido de lítio 2,51 g	Trizma base 3,63 g	SELANDER <i>et al.</i> , 1971
	Ácido bórico 18,55 g	Ácido cítrico 1,05 g	
	Água destilada 1,0 L	Água destilada 1,0 L	

**Tabela V:** Enzimas usadas, com abreviações, número de comissão (n° E.C.), número de subunidades, número de *loci* interpretados, tampão e tecido utilizados.

Enzima	Abrev.	N° E.C.	N° sub.*	N° <i>loci</i>	Tampão	Tecido
Fosfoglicomutase	<i>Pgm</i>	2.7.5.1	1	1	TLiOH	intestino
Desidrogenase do malato	<i>Mdh</i>	1.1.1.37	2	1	TLiOH	intestino
Dismutase de superóxido	<i>Sod</i>	1.15.1.1	1	1	TLiOH, TEM e Poulik	músculo da lanterna e intestino
Esterase, alfa	$\alpha$ - <i>Est</i>	3.1.1.1	1	3	TLiOH	intestino
Isomerase da glicose-6-fosfato	<i>Pgi</i>	5.3.1.9	2	1	TEM	músculo da lanterna
Oxidase da xantina	<i>Xod</i>	1.2.3.2	2	1	Poulik	intestino
Peptidase (pro phe)	<i>Pep</i>	3.4.11.1	2	1	Poulik	intestino

1 = monomérica; 2 = dimérica; 4 = tetramérica.



**Figura 7:** Órgãos de onde os tecidos usados nas corridas eletroforéticas foram extraídos (Foto: Oliveira, M.B.D.).

### ***3.2.2 Homogeneização***

Os tecidos foram homogeneizados em ambiente refrigerado com o auxílio de um bastão de vidro em uma placa de acrílico perfurada mantida sobre uma placa de vidro com gelo para evitar a proteólise e desnaturação das enzimas. Pedacos de papel de filtro (Whatman 3MM) de aproximadamente 2 x 15mm eram mergulhados no homogeneizado e logo em seguida colocados nos géis. Em um gel, foi possível acondicionar entre 20 e 35 indivíduos.

### ***3.2.3 Preparação dos géis***

O gel suporte para a eletroforese horizontal foi feito de amido 12,5% (27,5g de amido em 220ml de tampão). A solução de amido foi levada ao fogo até fervura e submetida ao vácuo para retirada das bolhas. A solução foi derramada sobre uma placa de vidro com um espaçador de acrílico com 6mm de altura e coberta com uma segunda placa de vidro. Após ser resfriado à temperatura ambiente (aproximadamente 5 min), o gel foi levado à geladeira por aproximadamente 20 min para atingir temperatura e consistência ideais para corrida.

O gel foi cortado a uma distância de aproximadamente 3cm de sua borda inferior, resultando em duas partes desiguais. Os papéis de filtro embebidos no homogeneizado foram colocados ordenadamente no gel (na parte maior). O gel foi, então, remontado. Uma gota de solução de azul de bromofenol foi adicionada em cada extremidade do gel para ser usado como marcador de corrida. O gel foi, então, colocado em uma cuba de eletroforese horizontal para a corrida eletroforética.

### ***3.2.4- Corrida eletroforética***

As corridas eletroforéticas foram realizadas com as cubas dentro de uma geladeira, à temperatura média de 5<sup>0</sup>C, a uma potência média de 3,2 W e um período variando de 6 à 9 horas dependendo do tampão utilizado.

Após a corrida, o gel foi fatiado, numa mesa de corte fixa na qual existe um fio de aço inoxidável muito fino disposto na diagonal. As fatias foram de aproximadamente 1mm de espessura. O resultado foi 5 ou 6 fatias, das quais as duas externas foram descartadas devido à má resolução das enzimas nas mesmas.

### 3.2.5- Revelação

As fatias de gel foram colocadas em placas de acrílico e, posteriormente, adicionadas soluções reveladoras apropriadas para cada enzima, conforme HARRIS & HOPKINSON (1978) e RICHARDSON *et al.*, (1986). As soluções reveladoras consistem de um tampão com pH próximo do que é considerado ideal para a enzima, onde são dissolvidos o substrato da enzima, seus cofatores e substâncias capazes de detectar a reação ou formação do produto. Nas Tabelas VI e VII estão as receitas dos tampões reveladores e das enzimas usadas neste trabalho.

**Tabela VI:** Receitas dos sistemas de tampão usados para revelação.

<b>Tampão</b>	<b>pH</b>	<b>Receita</b>
<b>TRIS Maleato 0,02M</b>	5,3	Água destilada 1,0 L TRIZMA base 1,2 g Ácido maleico 2,3 g
<b>TRIS HCl</b>	8,0	Água destilada 1,0 L TRIS HCl 2,4 g



**Tabela VII:** Receitas dos sistemas enzimáticos revelados (HARRIS & HOPKINSON, 1978; RICHARDSON *et al.*, 1986).

Enzima	Receita	Tampão de revelação
<i>a-Est</i>	$\alpha$ -naphthyl acetate 10mg*	Tris Maleato
	Fast blue 20mg	
<i>Mdh</i>	NAD 8mg	Tris HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
<i>Pep</i>	L-prolyl-phenylalanine 5mg	Tris Maleato**
	Ortho-dianisidine 5mg	
	Peroxidase 250u	
	L-amino acid oxidase 5mg	
	MgCl <sub>2</sub> 10mg	
<i>Pgi</i>	NADP 5mg	Tris HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	MgCl <sub>2</sub> 50mg	
	G6PDH 1,4u	
	Fructose-6-phosphate 25mg	
<i>Pgm</i>	NADP 5mg	Tris HCl
	MTT 5mg	
	PMS 1mg	
	MgCl <sub>2</sub> 50mg	
	G6PDH 1,4u	
	Glucose-1-phosphate 50mg	
<i>Sod</i>	MTT 7mg	Tris HCl
	PMS 1mg	
<i>Xod</i>	MTT 5mg	Tris HCl
	PMS 1mg	
	Hypoxantine 15mg	

\* dissolver em 0,5mL de EtOH; \*\* ferver com 0,4g de agar antes de misturar os reagentes.

### **3.2.6 Interpretação dos zimogramas**

Os padrões de banda resultantes da revelação foram interpretados mendelianamente, de maneira conservadora, seguindo os padrões já encontrados para enzimas mono, di, e tetraméricas (HARRIS & HOPKINSON, 1978; RICHARDSON *et al.* 1986). Os alelos foram classificados de acordo com sua mobilidade anódica. O alelo mais rápido de cada *locus* foi designado “a”, o segundo “b”, e assim por diante. Esta interpretação foi desenhada em papel pautado. A obtenção das frequências genotípicas observadas foi obtida através da contagem direta dos genótipos nas interpretações desenhadas no papel. A Figura 8 representa as etapas do método de eletroforese de aloenzimas.

### **3.2.7- Fixação dos géis**

Após a interpretação, os géis foram colocados por 24 horas em uma solução fixadora de ácido acético a 7% para as enzimas desidrogenases (*Mdh*, *Pgi*, *Pgm*, *Sod* e *Xod*) e uma solução de 5 partes de metanol, 5 partes de água destilada e 1 de ácido acético (5:5:1) no caso das outras enzimas ( $\alpha$ -*Est* e *Pep*). Em seguida, foram mergulhados por mais 24 horas em solução de glicerol 5%, etiquetados (nome da enzima, número do gel, tampão e data da eletroforese) e montados entre duas folhas de celofane embebidas na mesma solução de glicerol e deixados para secar por alguns dias a temperatura ambiente, sendo posteriormente arquivados.

**1) POPULAÇÃO NATURAL**



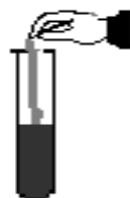
**2) INDIVÍDUO**



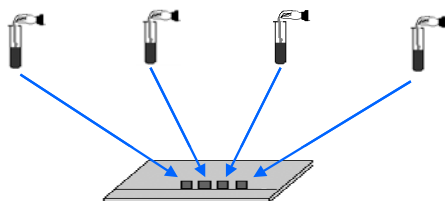
**3) AMOSTRA DE TECIDO DO INDIVÍDUO**



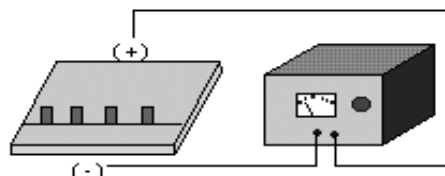
**4) HOMOGENEIZADO**



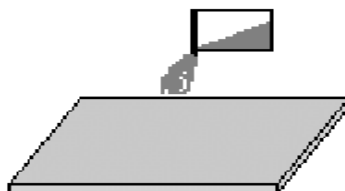
**5) GEL DE AMIDO COM AMOSTRAS DE HOMOGENEIZADO DE CADA INDIVÍDUO DA POPULAÇÃO**



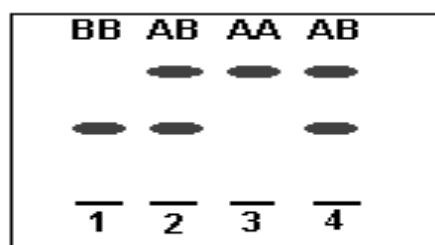
**6) ELETROFORESE**



**7) COLORAÇÃO ESPECÍFICA DAS ALOENZIMAS**



**8) INTERPRETAÇÃO MENDELIANA DAS BANDAS NO GEL**



**Figura 8:** Resumo do método de eletroforese de aloenzimas (adaptado de SILVA, 2002).

### 3.3- Análise de dados

As frequências genotípicas observadas, interpretadas diretamente dos géis, encontram-se no Apêndice A desta dissertação. Todas as análises foram realizadas utilizando-se os programas GENEPOP versão 3.3 (RAYMOND & ROUSSET, 2001), BYOSIS-2 (SWOFFORD & SELANDER, 1997), Fstat 2.9.3.2 (GOUDET, 2001) e o *Excel* para *Windows*.

Os genótipos interpretados a partir dos géis foram usados para gerar as frequências gênicas de cada *locus* em cada população através da seguinte fórmula:

$$\text{Frequência (A)} = [(AA) + (AB)/2]/N$$

Onde:

AA e AB = contagem direta do número de indivíduos que apresentavam os genótipos homozigotos e heterozigotos presentes na amostra e,  
N = tamanho da amostra.

Em populações diplóides, a distribuição dos genes em cada *locus* é governada pela lei de Hardy-Weinberg, obedecidos seus pressupostos. De acordo com essa lei, as frequências genotípicas são dadas pela soma dos quadrados das frequências alélicas. Assim, em um *locus* enzimáticos com dois alelos (A e B) e dadas as suas frequências (p e q, respectivamente) as frequências dos três genótipos correspondentes serão dadas pela seguinte equação:

$$\begin{aligned}(p + q)^2 &= 1 \\ p^2 + 2pq + q^2 &= 1\end{aligned}$$

A comparação entre proporções genotípicas observadas com aquelas esperadas pela lei de Hardy-Weinberg é um procedimento fundamental em genética de populações. O teste do qui-quadrado é o mais comumente utilizado para testar a hipótese de diferenças significativas entre as proporções observadas e esperadas:

$$\chi^2 = \Sigma((o - e)^2/e)$$

Onde:

o = proporção genotípica observada e,  
e = proporção genotípica esperada.

Para os testes de conformidade ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi usado um teste exato (ROUSSET & RAYMOND, 1995), no qual a hipótese nula foi de união de gametas ao acaso e a hipótese alternativa o déficit de heterozigotos. A significância dos valores de P obtidos foram corrigidos com a técnica de Bonferroni (RICE, 1989):

$$P = \alpha/k$$

Onde:

$\alpha$  = nível de significância e,

k = número de testes realizados.

Foi usado o teste do qui-quadrado também para verificar a homogeneidade das frequências alélicas entre as populações para cada *locus* polimórfico. Para realização do teste foram construídas tabelas de contingência. O valor de p adotado foi de 5%.

A heterozigosidade foi calculada de acordo com a formula:

$$H = \Sigma(h/r)$$

Onde:

r = número de locos e,

h = índice de diversidade gênica:

$$h = 1 - \Sigma p_i^2$$

Onde:

p = a frequência do alelo i do gene nesse *locus*.

O grau de polimorfismo corresponde ao número de *loci* polimórficos dividido pelo número total de *loci* analisados. Um *locus* foi considerado polimórfico quando mais de um alelo foi detectado.

Para testar a hipótese de que os genótipos de cada *locus* são independentes com relação aos outros *loci*, ou seja, de que não há desequilíbrio de ligação entre os *loci*, foi utilizado o teste exato de Fisher (SOKAL & ROHLF, 1995).

Para medir o grau de diferenciação gênica entre as populações, foram empregados os índices de fixação de WEIR & COCKERHAM (1984), F, f e  $\theta$ . F é o índice de endocruzamento total e inclui tanto a contribuição devido ao cruzamento não

panmítico dentro de cada subpopulação ( $f$ ) como o efeito da subdivisão em subpopulações ( $\theta$ ). Os 3 parâmetros estão relacionados da seguinte forma:

$$f = (F - \theta)/(1 - \theta)$$

O cálculo da significância dos índices de fixação de WEIR & COCKERHAM (1984),  $\theta$ ,  $f$  e  $F$  foi feito pela técnica de *Jackknife*. Esta técnica realiza reamostragem das populações para cada *locus* e para a média. Os resultado do *Jackknife* foram utilizados, então, para calcular os intervalos de confiança para cada um dos valores dos índices de fixação como descrito por KREBS (1989). O intervalo de confiança adotado neste trabalho foi de 95%.

Os graus de liberdade foram obtidos pela a fórmula:

$$g.l. = n-1$$

Onde:

$n$  = número de populações

A significância das médias dos índices de fixação de Weir & Cockerham foi calculada, também, por *bootstrap* entre os *loci* com intervalos de confiança de 95% e 99%.

A partir dos valores de  $\theta$ , foi possível obter uma estimativa do fluxo gênico ( $N_{em}$ ), que é o número médio de migrantes trocados entre populações a cada geração:

$$N_{em} = ((1/\theta) - 1)/4$$

Este procedimento foi realizado para média e também para as populações pareadas. Os resultados foram utilizados para construção de um gráfico que demonstra a relação entre  $N_{em}$  e distâncias geográficas. Os dados foram logaritimizados ( $\log_{10}$ ).

A existência de isolamento por distância foi testada por meio de uma análise de correlação de  $\theta$  dois a dois versus os valores de distância geográfica logaritimizados ( $\log_{10}$ ) para todos os pares de populações. Foram usados valores de  $\theta/(1-\theta)$ , já que a variância dos  $\theta$  pode ser mais facilmente interpretada que os valores de  $\theta$  em si (ROUSSET, 1997). A significancia da correlação obtida foi calculada por meio do programa ISOLDE (Genepop) usando um coeficiente de correlação de Spearman ( $r$ ), calculado por um teste de Mantel com 1000 permutações aleatórias.

O cálculo das identidades gênicas (I) foi realizado a partir das frequências gênicas, utilizando-se o índice de NEI (1972):

$$I = \Sigma(f_i \times f_j) / (\sum f_i^2 \times \sum f_j^2)^{0,5}$$

Onde:

$f_i$  = frequência de cada alelo na população i e,

$f_j$  = frequência de cada alelo na população j

Desta forma, estima-se o grau de similaridade genética entre as populações em relação às suas frequências alélicas.

## **4- RESULTADOS**



Os sete sistemas enzimáticos analisados foram interpretados como nove *loci* gênicos. Todos se mostraram polimórficos, à exceção da enzima *Sod*. A enzima  $\alpha$ -*Est* apresentou três *loci* gênicos. Na Tabela VIII, encontram-se os resultados de frequências gênicas para todos os *loci* em todas as populações estudadas, bem como os respectivos tamanhos de amostra utilizados.

A Figura 9 mostra a distribuição das frequências alélicas de cada *locus* pelos locais de coleta. O *locus*  $\alpha$ -*Est-1* é praticamente monomórfico, apenas a população de Ferradura apresentou um alelo mais lento em frequência baixa (0,024). Para o *locus*  $\alpha$ -*Est-2*, foram encontrados três alelos presentes em todas as populações, sendo o alelo B o mais freqüente para todas elas. O *locus*  $\alpha$ -*Est-3* possui dois alelos, sendo o alelo B mais comum para a maioria das populações, com exceção das populações de Itaipu, Prainha e Ferradura. *Mdh* possui três alelos presentes nas populações de Itaipu, Prainha e Forte e dois alelos para as demais populações, sendo o alelo B o mais freqüente em todas as populações. Como o *locus*  $\alpha$ -*Est-1*, o *locus* *Pep* é praticamente monomórfico, apenas duas populações possuem um segundo alelo mais lento em frequência baixa (Prainha (0,049) e Ferradura (0,048)). O alelo mais comum para o *locus* *Pgi* é o C. Para este *locus*, a população de Ilha do Cabo Frio possui quatro alelos enquanto a população do Però possui apenas dois, todas as outras sete populações possuem três alelos. O *locus* *Pgm* apresenta o alelo B como o mais freqüente para todas as populações com exceção da população da Prainha, que apresenta frequências bastante elevadas para o alelo mais raro (0,875). As populações do Forte, Ilha do Cabo Frio e Forno-Búzios são monomórficas para o *locus* *Pgm* (possuem somente o alelo B). Em *Xod* existem dois alelos segregando, sendo o alelo A o mais freqüente em todas as populações. A população do Forte é monomórfica para o *locus* *Xod*.

Em função dos resultados de distribuição de frequências gênicas, foram construídas tabelas de contingência para testar se as diferenças encontradas foram significativas. Os resultados evidenciaram que não existe diferença significativa entre as frequências de nenhum dos alelos de nenhum *locus* para nenhuma das populações (Apêndice B).

A média de alelos por *locus* nas populações foi de 1,9 e oscilou entre 1,8 e 2,1. O polimorfismo médio foi de 65,45%, sendo que a população do Forte apresentou o

polimorfismo mais baixo (44,4%) e a população de Ferradura apresentou o maior polimorfismo (88,9%). As heterozigosidades observadas variaram de 0,123 (Forno Búzios) a 0,205 (Itaipu), com média para todas as populações de 0,158 enquanto as heterozigosidades esperadas tiveram valores que variaram de 0,194 (Forte) a 0,294 (Prainha) com média para todas as populações de 0,238 (Tabela IX). A maior heterozigosidade por *locus* encontrada foi para enzima *Pgi* na população do Forte ( $H_{obs} = 0,500$  e  $H_{esp} = 0,632$  – Tabela X).

A maioria dos *loci* não desviou significativamente do esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg após a correção de Bonferroni, contudo, foram encontrados três desvios significativos: dois para o *locus Mdh* nas populações de Itaipu e Prainha e um no *locus  $\alpha$ -Est-3* na população da Praia Vermelha (Tabela XI). O teste exato (ROUSSET & RAYMOND, 1995) indicou que os desequilíbrios encontrados são resultado de um déficit de heterozigotos.

Não foi encontrado nenhum caso de desequilíbrio de ligação entre nenhum dos *loci* para nenhuma das populações estudadas. Os resultados encontram-se no Apêndice C.

O  $\theta$  médio para todas as populações foi 0,0451, que é não significativo e nenhum *locus* apresentou evidência de estruturação. Os valores de  $\theta$  variaram de -0,0258 ( *$\alpha$ -Est-1*) até 0,3536 (*Pgm*). O  $f$  médio para todas as populações foi, também, não significativo (0,3177). Os valores de  $f$  variaram entre 0,0218 ( *$\alpha$ -Est-1*) e 0,4535 (*Pgm*). O valor médio de  $F$  foi 0,3485 (Tabela XII). Os cálculos dos intervalos de confiança obtidos a partir dos resultado de *Jackknife* estão no Apêndice D.

O número de migrantes por geração estimado entre todas as populações foi de 5,2932. A Tabela XIII mostra os valores de  $\theta$  dois a dois e também o número de migrantes por geração dois a dois. Os maiores valores de  $\theta$  dois a dois e os menores valores de migrantes por geração foram encontrados entre as populações de Prainha e as demais. A Figura 10 mostra a dispersão de  $N_e m$  pela distância geográfica.

A Figura 11 mostra a dispersão dos valores de  $\theta/(\theta-1)$  pela distância geográfica, o valor de  $R^2$  encontrado para a regressão linear é positivo, mas muito baixo ( $R^2 = 0,0294$ ). A correlação esperada produzida por 1000 permutações de Mantel não foi significativamente maior ( $P > 0,815$ ) ou menor ( $P < 0,185$ ) que a correlação observada.

A mínima identidade gênica encontrada foi igual a 0,867 entre Forno Búzios e Prainha e, as máximas iguais a 1,000 entre as populações de Ilha de Cabo Frio e Forno Búzios, Ilha de Cabo Frio e Praia Vermelha, Ilha de Cabo Frio e Però, Però e Praia

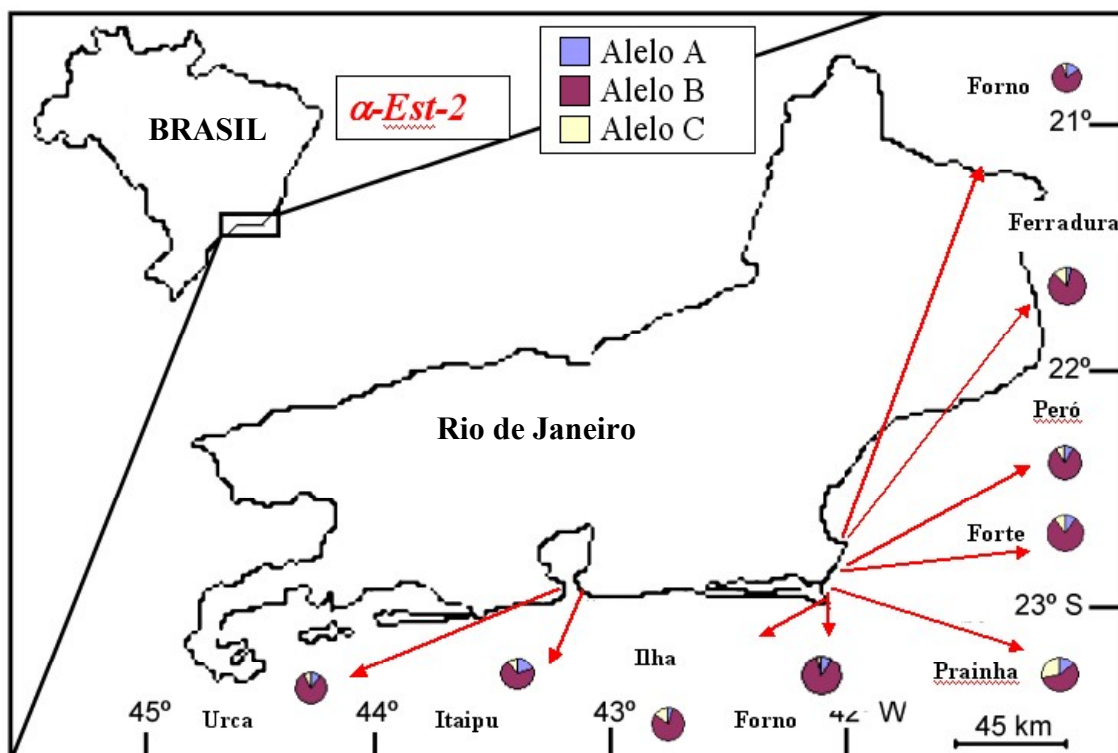
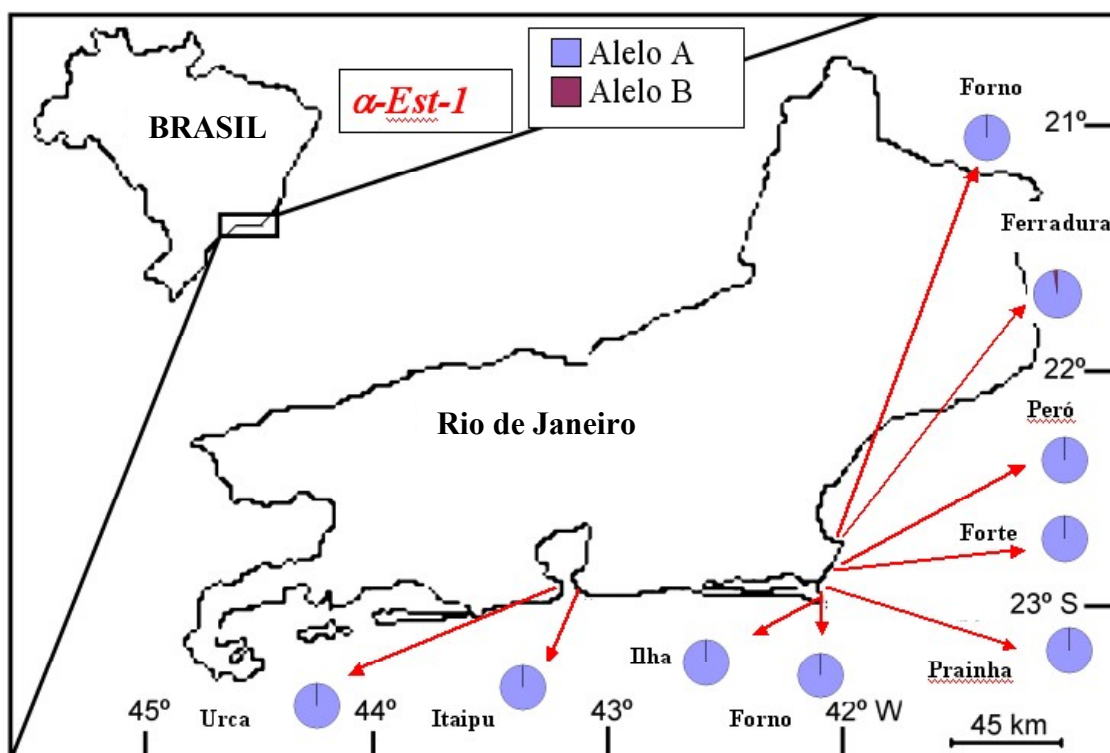
Vermelha e Praia Vermelha e Forte (Tabela XIV). A média das identidades gênicas entre todas as populações foi 0,969. As menores Identidades podem ser observadas entre a população de Prainha e as demais.

**Tabela VIII:** Frequências alélicas.

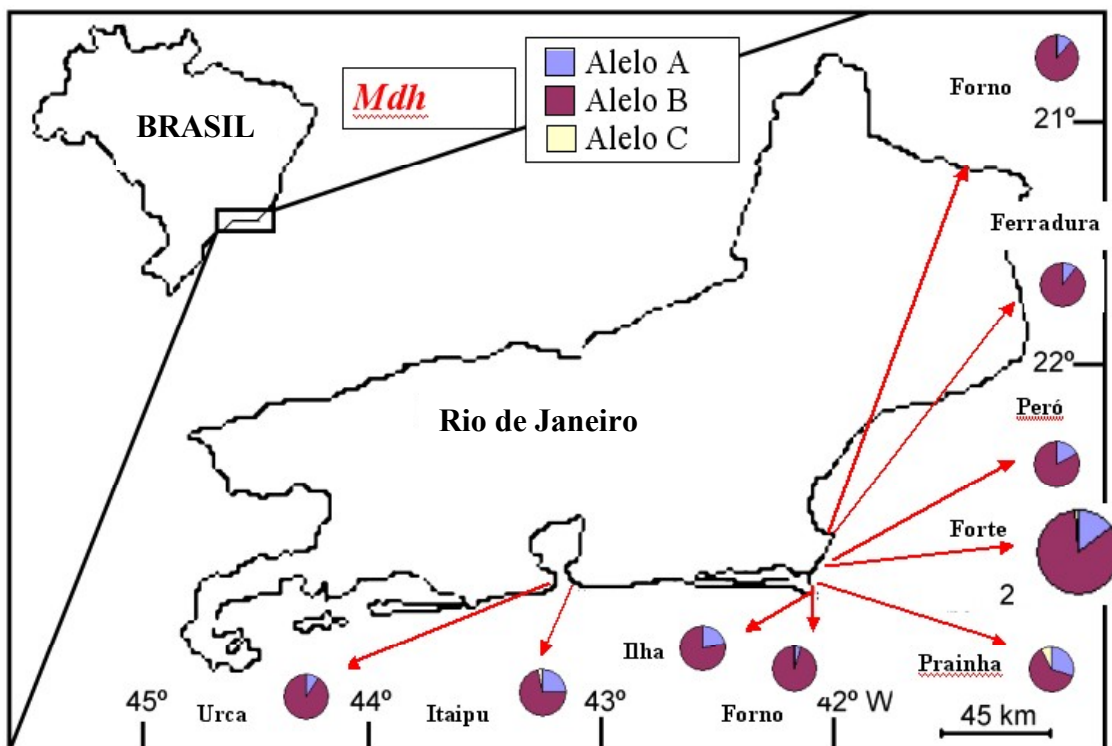
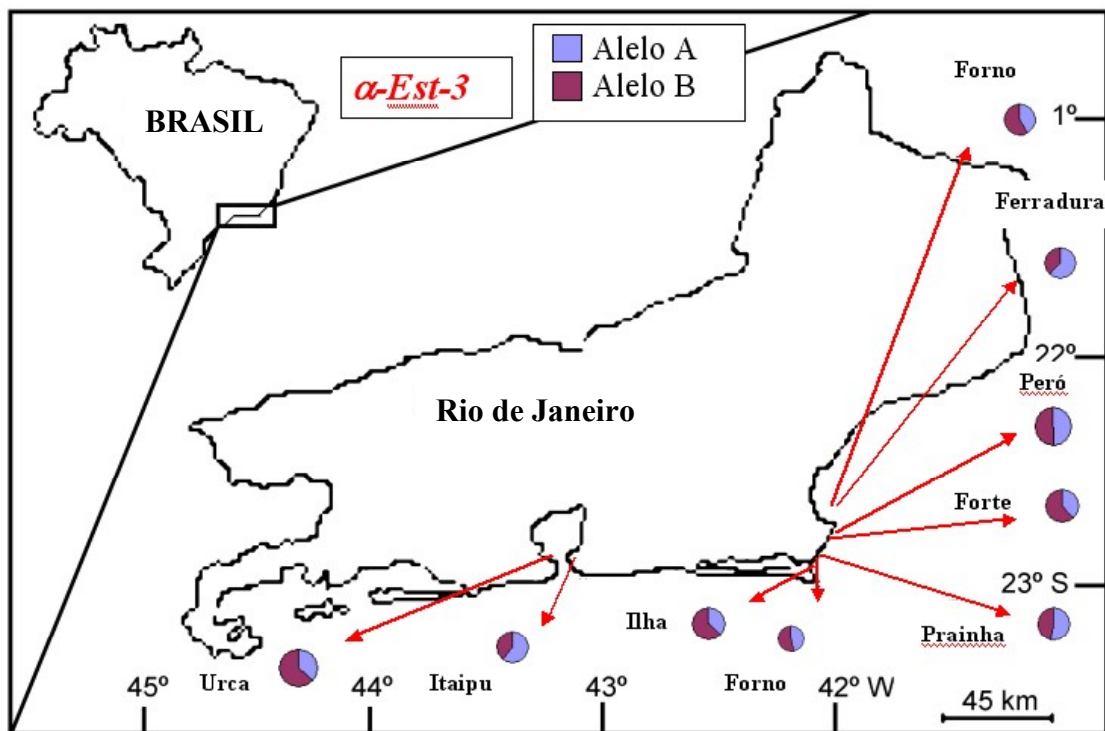
<i>Locus</i>	População								
	ITA	PRA	FER	FBZ	FAR	ILH	PRV	PER	FOR
<i><math>\alpha</math>-Est-1</i>									
A	1,000	1,000	0,976	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
B	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
N	6	18	21	18	9	3	8	6	13
<i><math>\alpha</math>-Est-2</i>									
A	0,200	0,138	0,042	0,160	0,087	0,050	0,105	0,091	0,100
B	0,700	0,569	0,833	0,786	0,870	0,800	0,816	0,818	0,800
C	0,100	0,293	0,125	0,054	0,043	0,150	0,079	0,091	0,100
N	30	29	36	28	23	10	19	22	15
<i><math>\alpha</math>-Est-3</i>									
A	0,598	0,533	0,622	0,420	0,462	0,367	0,365	0,488	0,385
B	0,402	0,467	0,378	0,580	0,538	0,633	0,635	0,512	0,615
N	41	45	37	50	40	30	37	41	39
<i>Mdh</i>									
A	0,250	0,300	0,105	0,121	0,054	0,222	0,098	0,176	0,151
B	0,718	0,622	0,895	0,879	0,946	0,778	0,902	0,824	0,837
C	0,032	0,078	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012
N	62	45	43	33	28	18	41	34	43
<i>Pep</i>									
A	1,000	0,951	0,952	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
B	0,000	0,049	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
N	50	51	52	65	93	77	56	69	55

**Tabela VIII:** Frequências alélicas (continuação).

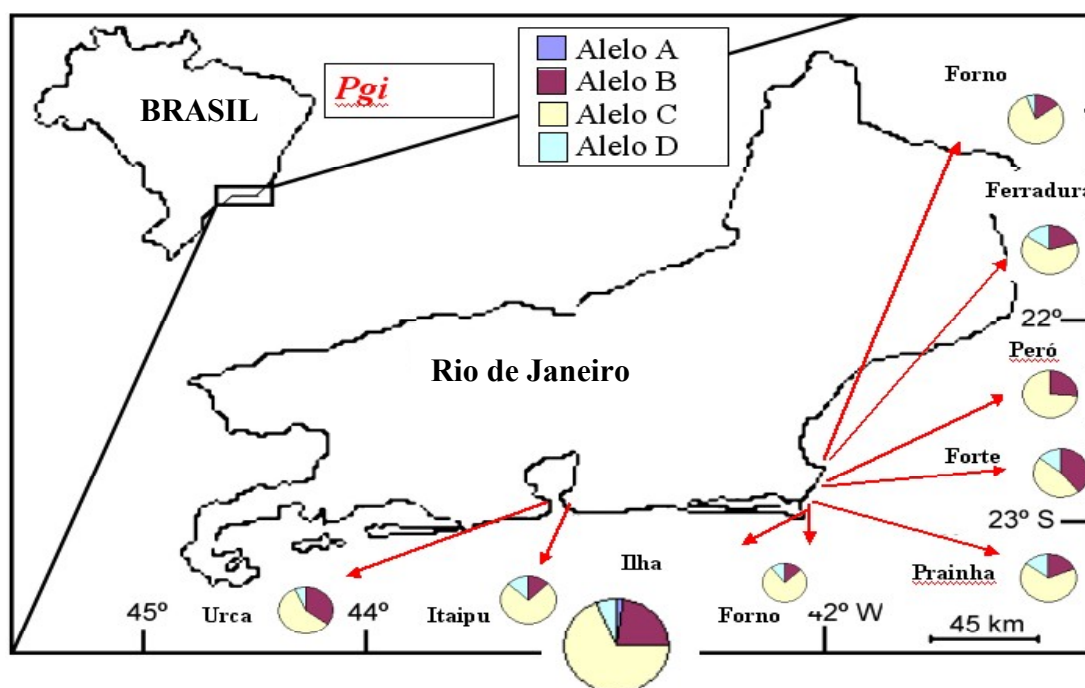
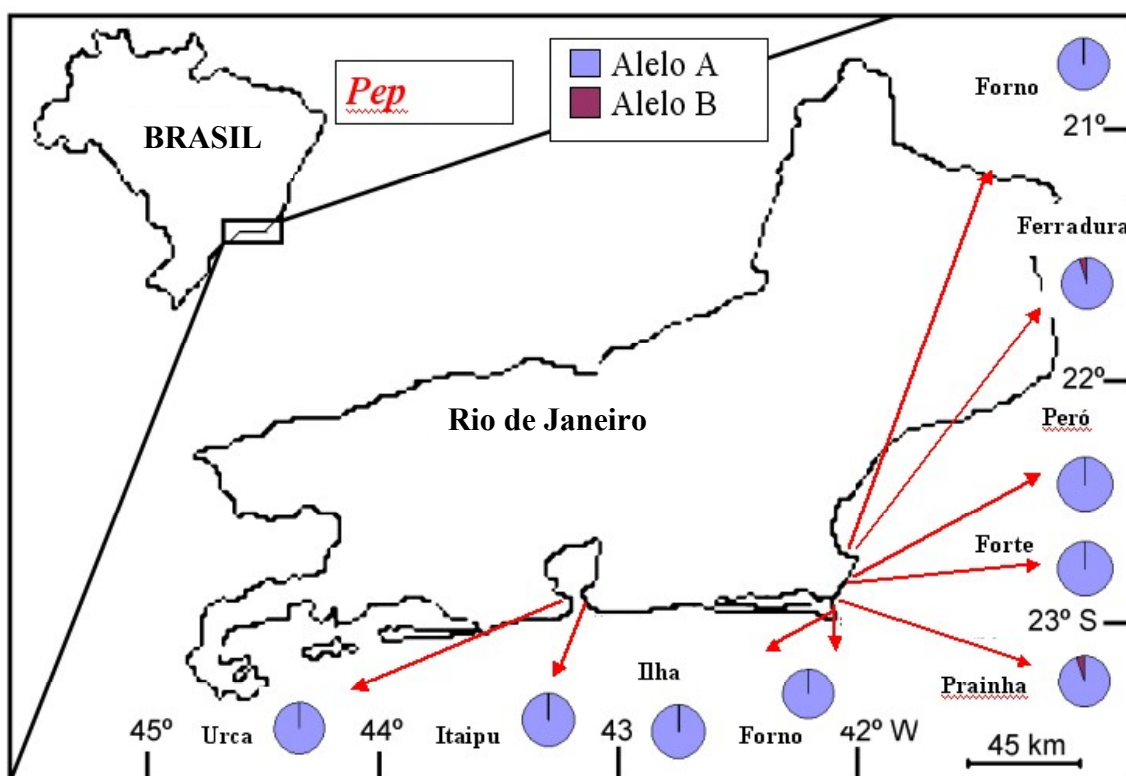
<i>Locus</i>	<b>População</b>								
	ITA	PRA	FER	FBZ	FAR	ILH	PRV	PER	FOR
<i>Pgi</i>									
	A	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000
	B	0,130	0,188	0,203	0,148	0,132	0,229	0,354	0,265
	C	0,740	0,666	0,641	0,796	0,763	0,688	0,583	0,735
	D	0,130	0,146	0,156	0,056	0,105	0,063	0,063	0,000
N		54	24	325	27	19	24	24	17
<i>Pgm</i>									
	A	0,250	0,875	0,400	0,000	0,300	0,000	0,083	0,167
	B	0,750	0,125	0,600	1,000	0,700	1,000	0,917	0,833
N		14	12	10	4	5	2	6	9
<i>Sod</i>									
	A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
N		109	62	58	69	96	77	65	61
<i>Xod</i>									
	A	0,797	0,882	0,940	0,667	0,625	0,750	0,875	0,885
	B	0,203	0,118	0,060	0,333	0,375	0,250	0,125	0,115
N		32	34	25	18	12	4	8	13



**Figura 9:** Distribuição das frequências alélicas pelos locais de coleta.

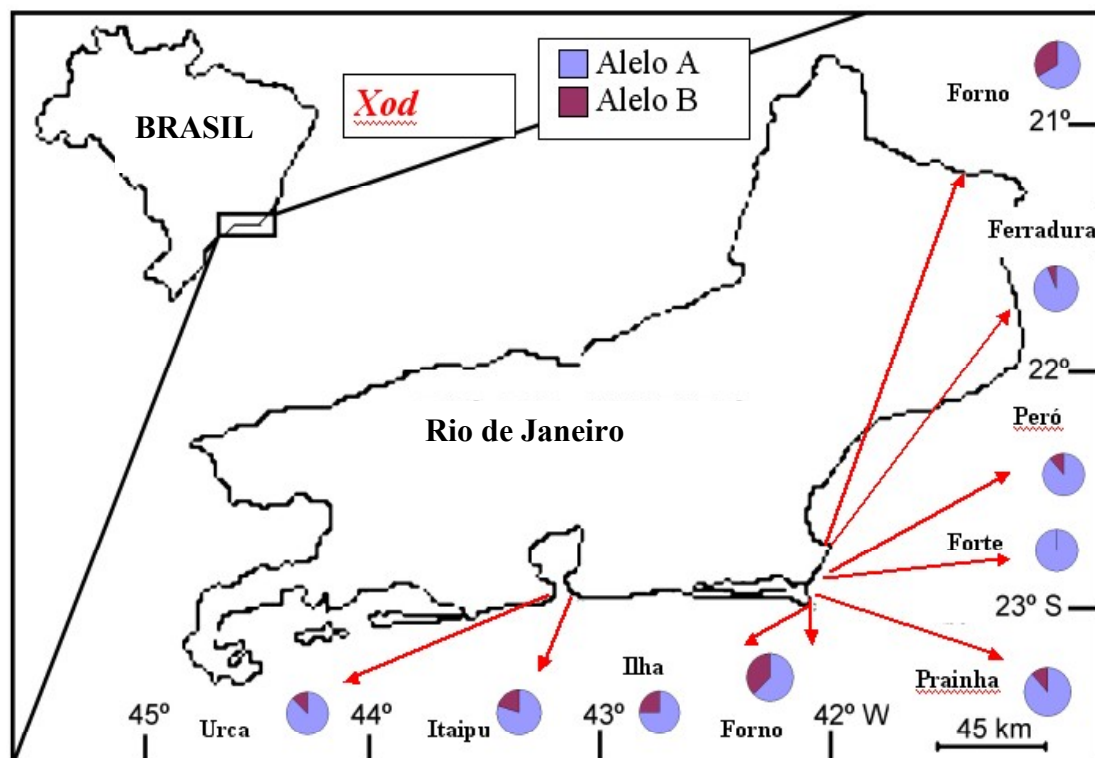
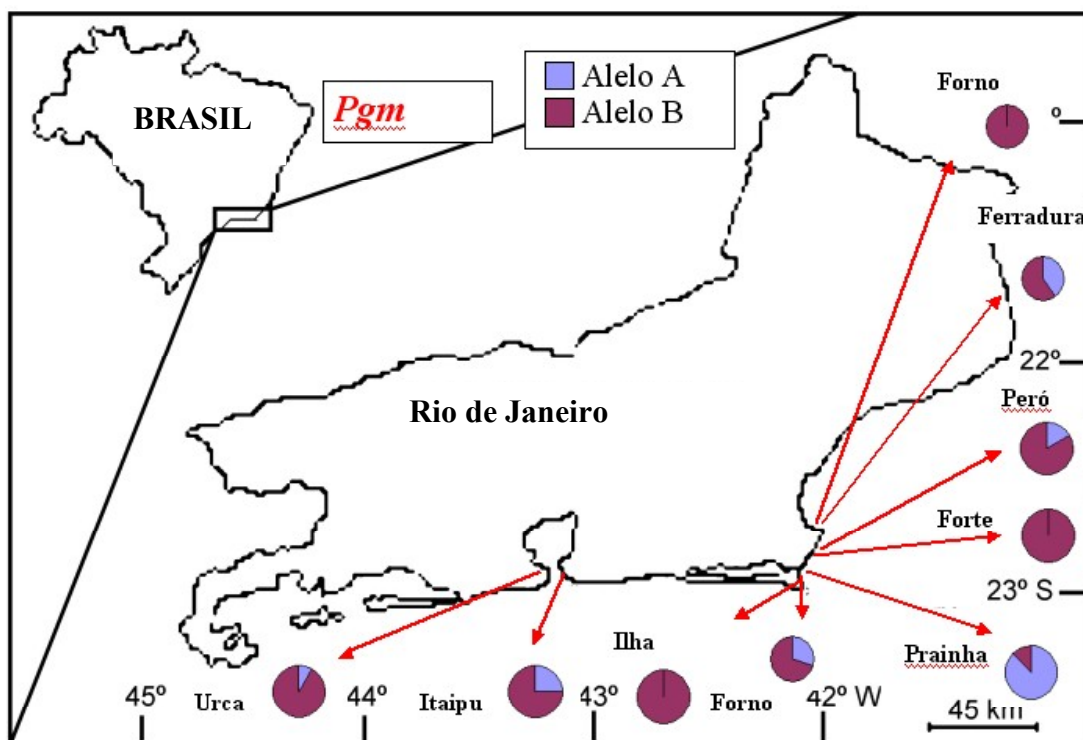


**Figura 9:** Distribuição das frequências alélicas pelos locais de coleta (continuação).



**Figura 9:** Distribuição das frequências alélicas pelos locais de coleta (continuação).





**Figura 9:** Distribuição das frequências alélicas pelos locais de coleta (continuação).

**Tabela IX:** Tamanho médio de amostra, número médio de alelos por *locus*, grau (%) de polimorfismo e heterozigosidades médias observadas e esperadas (Desvios-padrão entre parêntesis).

População	Tamanho médio de amostra	Nº médio de alelos	% de <i>loci</i> polimórficos*	Heterozigosidade média	
				Observada	Esperada**
<b>ITA</b>	44,2 (± 10,1)	2,0 (± 0,3)	66,7	0,205 (± 0,055)	0,280 (± 0,072)
<b>PRA</b>	35,6 (± 5,5)	2,1 (± 0,3)	77,8	0,179 (± 0,050)	0,294 (± 0,079)
<b>FER</b>	34,9 (± 5,0)	2,1 (± 0,2)	88,9	0,180 (± 0,049)	0,250 (± 0,070)
<b>FBZ</b>	34,7 (± 7,4)	1,8 (± 0,3)	55,6	0,123 (± 0,048)	0,208 (± 0,071)
<b>FAR</b>	36,1 (± 11,6)	1,9 (± 0,3)	66,7	0,141 (± 0,053)	0,245 (± 0,075)
<b>ILH</b>	27,2 (± 9,9)	1,9 (± 0,4)	55,6	0,163 (± 0,068)	0,232 (± 0,075)
<b>PRV</b>	29,3 (± 7,2)	1,9 (± 0,3)	66,7	0,165 (± 0,053)	0,213 (± 0,067)
<b>PER</b>	30,2 (± 7,6)	1,8 (± 0,2)	66,7	0,128 (± 0,051)	0,226(± 0,062)
<b>FOR</b>	29,7 (± 7,4)	1,8 (± 0,3)	44,4	0,140 (± 0,061)	0,194 (± 0,083)
<b>Média para todas as pops</b>	33,54	1,9	65,45	0,158	0,238

\* Um *locus* foi considerado polimórfico quando mais de um alelo foi detectado

\*\* Estimativa não-viciada (NEI,1978)

**Tabela X:** Heterozigosidades por *locus*.

Local	$\alpha$ -Est-1		$\alpha$ -Est-2		$\alpha$ -Est-3		Mdh		Pep		Pgi		Pgm		Xod	
	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>	H <sub>obs</sub>	H <sub>esp</sub>
<b>ITA</b>	0,000	0,000	0,400	0,468	0,317	0,487	0,194	0,425	0,000	0,000	0,296	0,422	0,357	0,389	0,281	0,329
<b>PRA</b>	0,000	0,000	0,276	0,581	0,311	0,503	0,289	0,523	0,059	0,094	0,417	0,510	0,083	0,228	0,176	0,211
<b>FER</b>	0,048	0,048	0,222	0,292	0,432	0,477	0,163	0,190	0,058	0,092	0,375	0,532	0,200	0,505	0,120	0,115
<b>FBZ</b>	0,000	0,000	0,214	0,360	0,400	0,492	0,121	0,216	0,000	0,000	0,259	0,347	0,000	0,000	0,111	0,457
<b>FAR</b>	0,000	0,000	0,087	0,240	0,425	0,503	0,107	0,103	0,000	0,000	0,368	0,400	0,200	0,467	0,083	0,489
<b>ILH</b>	0,000	0,000	0,400	0,353	0,467	0,472	0,222	0,356	0,000	0,000	0,375	0,480	0,000	0,000	0,000	0,429
<b>PRV</b>	0,000	0,000	0,368	0,326	0,189	0,470	0,098	0,178	0,000	0,000	0,417	0,542	0,167	0,167	0,250	0,233
<b>PER</b>	0,000	0,000	0,182	0,321	0,488	0,506	0,118	0,295	0,000	0,000	0,176	0,401	0,111	0,294	0,077	0,212
<b>FOR</b>	0,000	0,000	0,267	0,352	0,256	0,480	0,233	0,279	0,000	0,000	0,500	0,632	0,000	0,000	0,000	0,000

**Tabela XI:** Probabilidades (P) de equilíbrio de Hardy-Weinberg (H<sub>0</sub>: união de gametas ao acaso).

<i>Locus</i>	<b>Populações</b>								
	<b>ITA</b>	<b>PRA</b>	<b>FER</b>	<b>FBZ</b>	<b>FAR</b>	<b>ILH</b>	<b>PRV</b>	<b>PER</b>	<b>FOR</b>
<i>α-Est-1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>α-Est-2</i>	0,1204	0,0014	0,1488	0,0289	0,0017	1,0000	1,0000	0,0068	0,2178
<i>α-Est-3</i>	0,0480	0,0156	0,7268	0,2456	0,3550	1,0000	0,0004*	1,0000	0,0057
<i>Mdh</i>	0,000*	0,0005*	0,3721	0,0479	1,0000	0,1587	0,0311	0,0029	0,3492
<i>Pep</i>	-	0,0975	0,0956	-	-	-	-	-	-
<i>Pgi</i>	0,0032	0,1705	0,0793	0,1796	0,4461	0,2267	0,2996	0,0389	0,2717
<i>Pgm</i>	1,000	0,1304	0,0817	-	0,3333	-	-	0,1765	-
<i>Xod</i>	0,5776	0,3712	1,0000	0,0022	0,0061	0,1429	1,0000	0,1200	-

\* Significativo após correção de Bonferroni ( $\alpha=0,00098$ )

**Tabela XII:** Índices de endocruzamento de Weir & Cockerham com os intervalos de confiança para as médias por *Jackknife* e *Bootstrap*.

<i>Locus</i>	<b>f</b>	<b>θ</b>	<b>F</b>
<i>α-Est-1</i>	0,0218 <sup>ns</sup>	-0,0258 <sup>ns</sup>	-0,0035 <sup>ns</sup>
<i>α-Est-2</i>	0,3094 <sup>ns</sup>	0,0225 <sup>ns</sup>	0,3250 <sup>ns</sup>
<i>α-Est-3</i>	0,2581 <sup>ns</sup>	0,0202 <sup>ns</sup>	0,2731 <sup>ns</sup>
<i>Mdh</i>	0,4158 <sup>ns</sup>	0,0430 <sup>ns</sup>	0,4409 <sup>ns</sup>
<i>Pep</i>	0,3763 <sup>ns</sup>	0,0346 <sup>ns</sup>	0,3978 <sup>ns</sup>
<i>Pgi</i>	0,2618 <sup>ns</sup>	0,0148 <sup>ns</sup>	0,2727 <sup>ns</sup>
<i>Pgm</i>	0,4535 <sup>ns</sup>	0,3536 <sup>ns</sup>	0,6467 <sup>ns</sup>
<i>Xod</i>	0,4206 <sup>ns</sup>	0,0613 <sup>ns</sup>	0,4561 <sup>ns</sup>
<i>Todos</i>	0,3177 <sup>ns</sup>	0,0451 <sup>ns</sup>	0,3485 <sup>ns</sup>
<i>Intervalo de confiança (95%)<sup>1</sup></i>	[0,256704; 0,403296]	[-0,056584; 0,238584]	[0,25048; 0,53552]
<i>Intervalo de confiança (95%)<sup>2</sup></i>	[0,279; 0,412]	[0,020; 0,215]	[0,295; 0,527]
<i>Intervalo de confiança (99%)<sup>2</sup></i>	[0,264; 0,432]	[0,018; 0,258]	[0,278; 0,569]

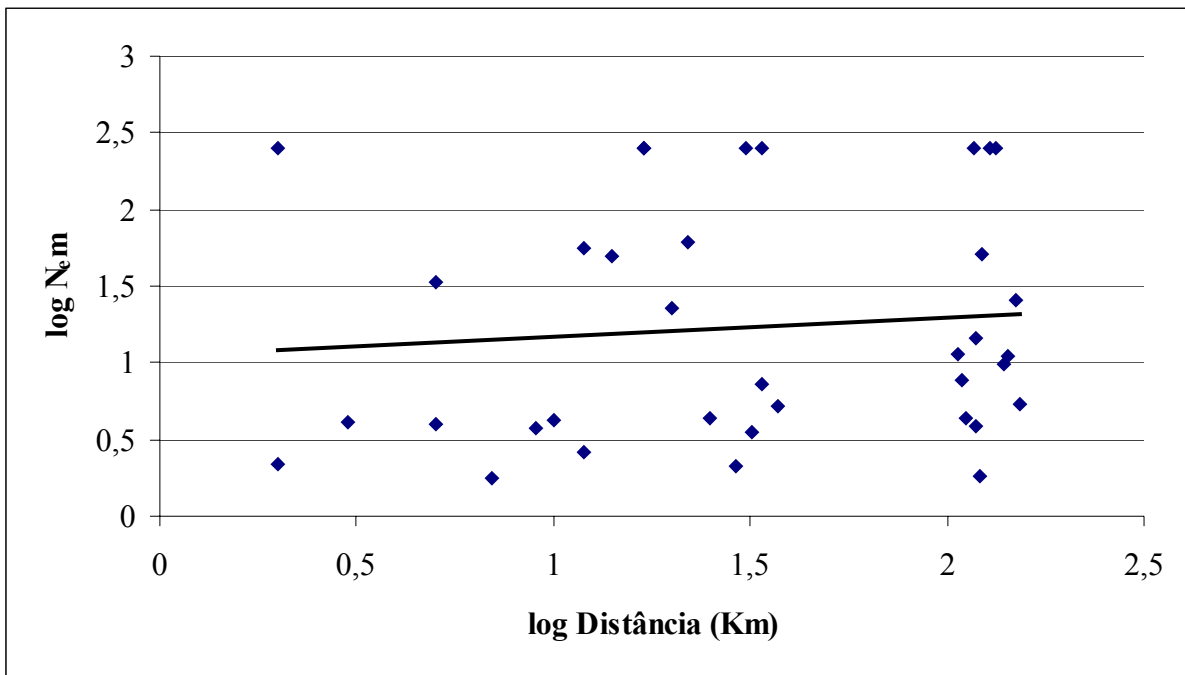
ns = não significativo

1 = *Jackknife*

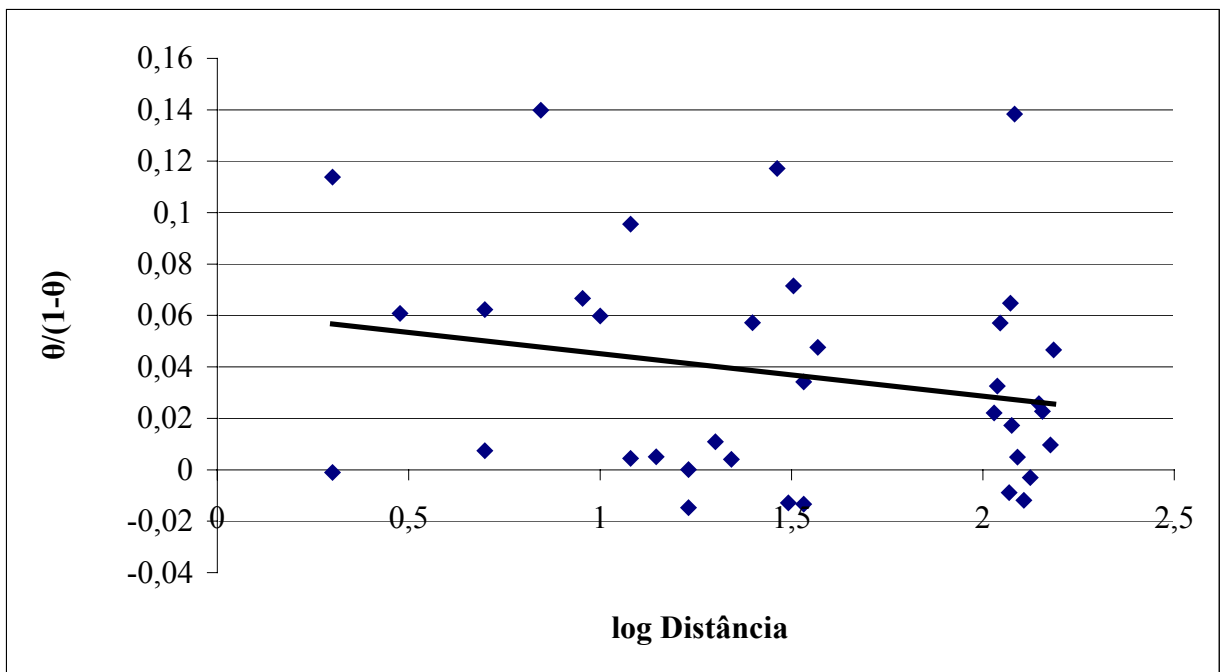
2 = *Bootstrap*

**Tabela XIII:** Valores de  $\theta$  dois a dois abaixo da diagonal e número de migrantes por geração dois a dois acima da diagonal.

<b>População</b>	<b>ITA</b>	<b>PRA</b>	<b>FER</b>	<b>FBZ</b>	<b>FAR</b>	<b>ILH</b>	<b>PRV</b>	<b>PER</b>	<b>FOR</b>
<b>ITA</b>	****	4,37	11,01	9,71	7,68	11,32	4,18	50,77	3,85
<b>PRA</b>	0,054	****	3,49	2,13	2,19	4,00	1,80	2,617	1,78
<b>FER</b>	0,0222	0,0667	****	4,11	7,32	5,25	5,36	22,89	4,37
<b>FBZ</b>	0,0251	0,1049	0,0573	****	249,75	249,75	25,79	249,75	60,72
<b>FAR</b>	0,0315	0,1022	0,033	-0,0131	****	249,75	14,45	49,75	3,75
<b>ILH</b>	0,0216	0,0587	0,0454	-0,0136	-0,001	****	249,75	249,75	56,56
<b>PRV</b>	0,0564	0,1215	0,0445	0,0096	0,017	-0,009	****	249,75	249,75
<b>PER</b>	0,0049	0,0872	0,0108	0,0001	0,005	-0,015	-0,003	****	33,53
<b>FOR</b>	0,0609	0,1227	0,0541	0,0041	0,0625	0,0044	-0,012	0,0074	****



**Figura 10:** Relação dos valores de  $\log N_m$  e  $\log$  Distância (Km) para as populações de *P. gaimardi* duas a duas.



**Figura 11:** Relação dos valores de  $\theta/(1-\theta)$  e das distâncias geográficas (Km) para as populações de *P. gaimardi* duas a duas.

**Tabela XIV:** Matriz de similaridade genética. Acima da diagonal: identidade genética; abaixo da diagonal: distância genética entre as populações (NEI, 1978).

<b>População</b>	<b>ITA</b>	<b>PRA</b>	<b>FER</b>	<b>FBZ</b>	<b>FAR</b>	<b>ILH</b>	<b>PRV</b>	<b>PER</b>	<b>FOR</b>
<b>ITA</b>	****	0,937	0,991	0,986	0,992	0,989	0,983	0,998	0,972
<b>PRA</b>	0,065	****	0,954	0,867	0,923	0,879	0,891	0,918	0,872
<b>FER</b>	0,009	0,047	****	0,962	0,987	0,969	0,980	0,993	0,970
<b>FBZ</b>	0,015	0,143	0,039	****	0,994	1,000	0,992	0,993	0,977
<b>FAR</b>	0,008	0,080	0,013	0,006	****	0,990	0,987	0,993	0,963
<b>ILH</b>	0,011	0,129	0,031	0,000	0,010	****	1,000	1,000	0,995
<b>PRV</b>	0,017	0,116	0,020	0,008	0,013	0,000	****	1,000	1,000
<b>PER</b>	0,002	0,086	0,007	0,007	0,007	0,000	0,000	****	0,992
<b>FOR</b>	0,028	0,137	0,030	0,023	0,038	0,005	0,000	0,008	****



## **5- DISCUSSÃO**

### **5.1- Equilíbrio de Hardy-Weinberg**

De acordo com a lei de Hardy-Weinberg, as frequências genotípicas de uma população podem ser inferidas a partir de suas frequências gênicas. Esse princípio assume como premissas a existência de panmixia (todos os cruzamentos são realizados ao acaso), ausência de seleção natural, deriva genética, migração e mutação atuando na população. (FUTUYMA, 2002). Quando em uma população, os valores observados são muito próximos dos esperados pela lei de Hardy-Weinberg, diz-se que esta população está em equilíbrio e quando as diferenças entre os valores esperados e observados são significativamente diferentes, diz-se que esta população está fora do equilíbrio. No segundo caso, uma ou mais premissas dessa lei não está sendo respeitada.

Neste trabalho foram encontrados três desvios significativos para a lei de Hardy-Weinberg, todos devidos à deficiência de heterozigotos. Contudo, não foi encontrado nenhum padrão específico, como um desequilíbrio do mesmo *locus* em todas as populações.

Outros trabalhos com equinodermos também reportam deficiência de heterozigotos (NASH *et al.*, 1988; MLADENOV & EMSON, 1990; MOBERG & BURTON, 2000; ADDISON & HART, 2004). A deficiência de heterozigotos em invertebrados marinhos é um fenômeno comum, embora não tenha tido, ainda, as suas causas identificadas. Algumas explicações já foram propostas para entender este fenômeno, tais como: endocruzamento, alelos nulos, erros de interpretação do gel, efeito Wahlund, aneuploidia e seleção natural.

O endocruzamento aumenta a frequência de homozigotos e diminui a de heterozigotos esperadas pela lei de Hardy-Weinberg. Para organismos com fertilização externa, dispersão por meio de larva planctotrófica e assentamento ao acaso como é observado em *P. gaimardi*, a explicação de endocruzamento é pouco provável (ZOUROS *et al.*, 1988). Por outro lado, o endocruzamento causaria deficiência de heterozigotos em todos os *loci* (ZOUROS *et al.*, 1988), padrão observado em *P. gaimardi*, logo, esta pode ser uma explicação possível para os déficits encontrados.

Os alelos nulos produzem uma proteína não funcional que não é detectada por eletroforese, desta forma, não há distinção entre homozigotos e heterozigotos com um alelo

nulo. A presença de alelos nulos causa uma aparente deficiência de heterozigotos. Todavia, para lançar mão desta explicação é preciso assumir a existência de uma elevada taxa de mutação gerando novos alelos nulos ou uma forte seleção favorecendo o heterozigoto nulo (BORSA *et al.*, 1991).

Os erros de interpretação geralmente levam a uma deficiência de heterozigotos, uma vez que os heterozigotos são mais facilmente interpretados como homozigotos do que o contrário (RAYMOND *et al.*, 1997). Contudo, espera-se encontrar um padrão de deficiência constante e, nesse estudo, a deficiência de heterozigotos ocorreu em *loci* diferentes. Além disso, a deficiência de heterozigotos é um fenômeno comum em invertebrado marinhos.

O efeito Wahlund é a deficiência de heterozigotos resultantes da amostragem de populações diferentes como se fossem apenas uma. O efeito Wahlund pode ser temporal ou espacial, ou seja, pode ser produzido pela amostragem de populações de diferentes áreas ou de diferentes coortes. As amostras das populações usadas nesta dissertação foram obtidas em mais de uma coleta, contudo, estas coletas foram realizadas em um curto espaço de tempo. A população que teve mais coletas e um intervalo maior entre as coletas foi Ferradura, que não possui nenhum desvio. O efeito Wahlund também prediz a presença de desequilíbrio de ligação (ZOUROS *et al.*, 1988), o que não foi observado para *P. gaimardi*.

A aneuploidia ocorre na fase embrionária e pode ser resultado de uma falha na separação de um par de cromossomos durante a meiose. Nos indivíduos ditos monossômicos, um dos cromossomos do par não chegou ao pólo da célula e possui genoma  $2n - 1$ , e nos trissômicos, existe um cromossoma a mais e apresentam o genoma  $2n + 1$ . AU *et al.*, (2001) observaram aneuploidia em ouriços da espécie *Anthocidaris crassispina* expostos a elevadas concentrações de cádmio. Entretanto, não há na literatura mais evidências da existência de aneuploidia em equinodermos.

A seleção natural pode causar uma mortalidade *locus*-específica durante o estágio larvar ou antes do assentamento dos heterozigotos (BORSA *et al.*, 1991). Para que ocorra seleção natural é necessário que as condições específicas do meio em que o organismo vive estejam favorecendo os homozigotos. Além disso, é esperado que o déficit de heterozigotos seja observado sempre no mesmo *locus* em todas as populações. Este padrão não foi observado para *P. gaimardi*.

O problema da deficiência de heterozigotos permanece por ser resolvido. Diferentes explicações foram eliminadas para diferentes espécies, sem se chegar a um modelo geral de explicação; não faltam hipóteses, mas nenhuma explica a variedade de dados observados. Como o fenômeno ocorre em organismos tão diferentes quanto invertebrados e plantas, é provável que não exista uma explicação única; talvez seja necessário buscar a explicação ao nível da espécie, do *locus* e mesmo da população (RAYMOND *et al.*, 1997).

Para este trabalho, foram descartados o efeito Wahlund, os alelos nulos, os erros de interpretação e a aneuploidia como causadores das deficiências de heterozigotos observadas. O endocruzamento permanece como possível causa.

## 5.2- Variação gênica intrapopulacional

A variabilidade gênica encontrada neste trabalho para a espécie *Paracentrotus gaimardi* ( $H_{obs}$  entre 0,123 e 0,205) é considerada alta, porém, está dentro da faixa de heterozigosidade média encontrada para outros trabalhos com invertebrados marinhos (variação entre 0,043 e 0,600 e média = 0,100 (NEVO, 1978; SILVA, 2002)).

Entre os muitos trabalhos realizados com diversas espécies de invertebrados marinhos, podemos citar os trabalhos de VADAS & BRISTOW (1985) com o poliqueta *Glycera dibranchiata* ( $H_{obs}$  entre 0,173 e 0,322); SMITH (1988) com o mexilhão *Perna canaliculus* ( $H_{obs}$  entre 0,263 e 0,347); SILVA (1991) com o mexilhão *P. perna* ( $H_{obs}$  entre 0,32 e 0,43) e o bivalve *Anomalocardia brasiliana* ( $H_{obs}$  entre 0,19 e 0,26); BENZIE E WILLIAMS (1997) com o bivalve *Tridacna maxima* ( $H_{obs}$  entre 0,345 e 0,548) e MANCHENKO *et al.*, (2000) com a espécie de anêmona *Antropleura orientalis* ( $H_{média}$  = 0,250).

Para equinodermos também foram relatados altos níveis de variação, dos quais podem ser citados como exemplos os organismos *Linckia laevigata* ( $H_{obs}$  = 0,360, WILLIAMS & BENZIE, 1998), *Acanthaster planci* ( $H_{obs}$  = 0,180, BENZIE, 1999), *Asterina pectinifera* ( $H_{obs}$  = 0,120, MATSUOKA & ASANO, 2003) e *Coscinasterias tenuispina* ( $H_{obs}$  = 0,330, PAZOTO, 2004) da classe Asteroidea; *Holoturia atra* ( $H_{obs}$  = 0,410 e 0,420, UTHICKIE *et al.*, 1998 e 2001, respectivamente) e *Stichopus chloronotus* ( $H_{obs}$  = 0,360 e 0,190, UTHICKIE *et al.*, 1999 e 2001, respectivamente) da classe Holoturoidea e, também, organismos da classe Echinoidea, como *Arbacia lixula* ( $H_{obs}$  =

0,354, PINHEIRO, 2005), *A. punctulata* ( $H = 0,157$ , MARCUS, 1977), *Strongylocentrotus nudus*, *S. intermedius* e *S. pallidus* ( $H_{\text{obs}} = 0,130$ ,  $0,240$  e  $0,240$ , respectivamente; MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001) e *S. franciscanus* ( $H_{\text{obs}} = 0,340$ ; MOBERG & BURTON, 2000).

ARCULEO *et al.*, (1998) desenvolveram um estudo com populações *P. lividus* do Mar Mediterrâneo usando aloenzimas como marcador molecular. Estes autores analisaram 13 enzimas que foram interpretadas como 20 *loci* enzimáticos. Das 13 enzimas reveladas para *P. lividus*, cinco foram reveladas também neste trabalho para *P. gaimardi* ( $\alpha$ -Est, Mdh, Sod, Pgi e Pgm). Das cinco enzimas usadas nos dois trabalhos, duas (Pgi e Pgm) foram polimórficas para *P. lividus* e quatro para *P. gaimardi* ( $\alpha$ -Est, Mdh, Pgi e Pgm). Os valores de heterozigosidade e polimorfismo de *P. lividus* ( $P = 25\%$ ,  $H = 0,081$  para população da Itália e  $H = 0,084$  para a população da Grécia) foram mais baixos do que os encontrados para *P. gaimardi*.

Os modelos que tentam explicar a alta variabilidade gênica encontrada em invertebrados marinhos são vários e se baseiam tanto na ação da seleção natural quanto de fatores estocásticos (LEVINTON, 1973; SOLÉ-CAVA & THORPE, 1991; SILVA, 2002).

A variação temporal é um dos modelos selecionistas usados para explicar a manutenção da variação genética nos organismos através da hipótese de sobre-dominância. De acordo com esta hipótese, os diferentes alelos, apresentam diferentes respostas a determinados fatores ambientais, os organismos heterozigotos seriam mais aptos a responder a um gradiente maior de variação ambiental que os homozigotos. Assim, organismos vivendo em ambientes mais estáveis apresentariam menor polimorfismo que os organismos que vivem em ambientes com maiores oscilações (LEVINTON, 1973).

LEVINTON (1975) realizou um estudo com 8 espécies do gênero *Macoma*, duas do médio litoral (*M. inquinata* e *M. nasuta*) e seis do infralitoral (*M. alaskana*, *M. elimata*, *M. lipara*, *M. calcarea*, *M. incongrua* e *M. brota*) para dois *loci* enzimáticos (Pgi e Lap). De acordo com a hipótese de variação temporal do ambiente, as populações do infralitoral deveriam apresentar menores níveis de variação gênica, mas isso não foi observado. SIN *et al.*, (1990), estudando a espécie *P. canaliculus* também no médio litoral e no infralitoral, encontrou valores de heterozigosidade maiores nos organismos do infralitoral. Os resultados deste trabalho se coadunam com a hipótese de variação temporal do ambiente.

SCHMIDT & RAND (2001) buscaram explicar a manutenção do polimorfismo em populações da craca *Semibalanus balanoides* que ocupam uma região de estresse no médio litoral. Nesse trabalho, os autores utilizaram duas enzimas *Gpi* e *Mpi*, e uma região controle de mtDNA. Foi encontrado que os diferentes homozigotos de *Mpi* estavam melhor adaptados a determinadas condições do médio litoral, o que leva a uma elevada heterozigosidade dessas populações.

Os elevados valores de variação gênica podem ser explicados, também, como resultado da heterogeneidade espacial do ambiente. Os níveis de variação dependeriam do número de subdivisões percebidas pelo organismo no ambiente (grão-ambiental) (GILLESPIE, 1974). Organismos bentônicos sésseis podem perceber inúmeras subdivisões no ambiente, manifestadas no processo de recrutamento, na ocorrência de seleção do substrato pelas larvas e na suscetibilidade a variados tipos de seleção pós-assentamento.

BILLIO (2004) investigou a variação genética em três populações de *P. perna* amostrando indivíduos do médio e do infralitoral. Os resultados mostraram diferenças significativas de frequências dos alelos para os loci *Cat* e *Sod-2*. O autor associa esta diferença ao estresse oxidativo a que são submetidos estes organismos, uma vez que as enzimas *Cat* e *Sod* estão diretamente relacionadas aos mecanismos fisiológicos de defesa antioxidante. Um estudo realizado com a espécie *Echinometra mathaei* na Austrália (Watts *et al.*, 1990) mostrou que a variação existente em uma pequena região geográfica é equivalente à encontrada em populações amostradas em uma extensão bem maior (1300 Km). Os autores sugerem que as forças que produzem diferenciação gênica estão atuando em uma escala local e pode ocorrer em uma geração.

Além dos valores de heterozigosidades altos, em *P. gaimardi* é possível observar a existência de uma diferença entre as frequências do alelo B do locus *Pgm* das populações da Prainha ( $F(B) = 0,125$ ) e as demais populações, inclusive de populações muito próximas geograficamente, como as do Forno – Arraial, distante 2 Km ( $F(B) = 0,7$ ) e Ilha do Cabo Frio, distante 5 Km ( $F(B) = 1$ ). A Figura 9 (página 73, Resultados) evidencia estas diferenças. Entretanto, os testes de significância (resultados das tabelas de contingência) evidenciaram que as diferenças existentes entre as frequências alélicas para este locus não são significativas, os valores de p para o locus *Pgm* foram todos maiores que 0,9.

Neste estudo, não foi possível reconhecer nenhum mecanismo seletcionista para explicar os elevados valores de variação gênica encontrados em *P. gaimardi*. A hipótese de variação temporal é pouco provável, uma vez que este é um organismo que vive no infralitoral e, desta forma, está pouco sujeito a grandes variações ambientais. Com respeito a hipótese do grão-ambiental, seria preciso estudos direcionados especificamente a esta hipótese, envolvendo aspectos bioquímicos, ecológicos e genéticos desta espécie.

Existem explicações que não usam a seleção natural como principal força evolutiva responsável pela manutenção da variação gênica. Os neutralistas consideram que os altos níveis de variação gênica encontrados nas populações naturais são produto da relação entre tamanho efetivo de população (que determina a taxa de deriva genética) e a taxa de mutação. Desta forma, é possível fazer previsões a respeito do padrão de variação gênica através de uma fórmula simples (KIMURA, 1968)

$$H = 4Ne\mu / (1 + 4Ne\mu)$$

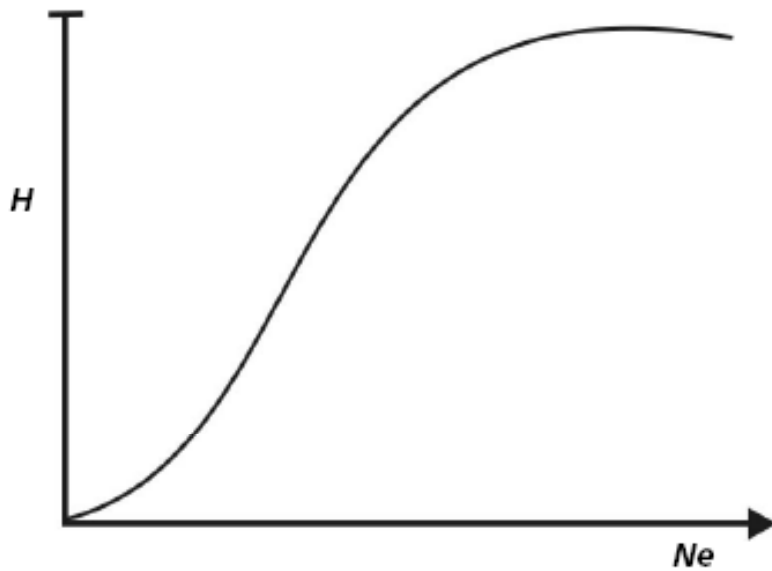
Onde:

$Ne$  = tamanho efetivo de população;

$\mu$  = taxa de mutação e

$H$  = heterozigosidade.

Segundo os neutralistas, em uma população finita de tamanho efetivo  $Ne$ , os alelos estarão entrando por mutação e se perdendo por ação da deriva genética. Desta forma, para uma dada taxa de mutação, é possível construir uma curva teórica que representa a distribuição esperada da variação gênica (medida como heterozigosidade) em função dos  $Ne$ 's (Figura 13) (SOLÉ-CAVA *et al.*, 2004). Populações pequenas sofrem um maior efeito da deriva, logo, admitindo-se uma taxa de mutação constante, espera-se que populações pequenas tenham um menor nível de variação gênica, como pode ser observado no gráfico representativo.



**Figura 12:** Gráfico representativo do modelo neutralista (H x Ne)  
(SOLÉ-CAVA *et al.*, 2004).

As taxas de mutação são muito semelhantes para todos os seres vivos. A quantidade de mutação capaz de ser detectada em estudos realizados com aloenzimas está na ordem de  $10^{-7}$  (SOLÉ-CAVA & THORPE, 1991). Assim, é possível estimar o  $Ne\mu$  para as populações de *P. gaimardi* usando-se as heterozigosidades observadas como as melhores estimativas das heterozigosidades reais de suas populações. Colocando-se  $Ne\mu$  em evidência na fórmula, ela pode ser transformada em:

$$Ne\mu = H / (4 - 4H)$$

Substituindo o termo H da fórmula acima pelo valor da heterozigosidade média observada para todos os *loci* e todas as populações de *P. gaimardi*, encontramos um valor de  $Ne\mu$  igual a 0,046912.

A Tabela XV mostra a estimativa de  $Ne\mu$  para alguns equinodermos e podemos observar que o valor de  $Ne\mu$  encontrado para *P. gaimardi* está dentro da faixa de valores encontrados para outras espécies das classes Echinoidea, Asteroidea, Holothuroidea e Ophiuroidea.



**Tabela XV:** Estimativa de  $N_{\mu}$  para alguns equinodermos.

Espécie	H	$N_{\mu}$	Referência
<b><i>ECHINOIDEA</i></b>			
<i>Paracentrotus gaimardi</i>	0,158	0,046912	ESTE ESTUDO
<i>Paracentrotus lividus</i>	0,081	0,022035	ARCULEO <i>et al.</i> , 1998
<i>Paracentrotus lividus</i>	0,084	0,022926	ARCULEO <i>et al.</i> , 1998
<i>Arbacia punctulata</i>	0,157	0,04656	MARCUS, 1977
<i>Arbacia lixula</i>	0,354	0,136997	PINHEIRO, 2005
<i>Strangylocentrotus nudus</i>	0,13	0,037356	MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001
<i>Strangylocentrotus intermedius</i>	0,24	0,078947	MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001
<i>Strangylocentrotus pallidus</i>	0,24	0,078947	MANCHENKO & YAKOVLEV, 2001
<b><i>ASTEROIDEA</i></b>			
<i>Acanthaster planci</i>	0,225	0,072581	NASH <i>et al.</i> , 1988
<i>Coscinasterias acutispina</i>	0,06	0,015957	MATSUOKA <i>et al.</i> , 1991
<i>C. tenuispina</i>	0,339	0,128215	PAZOTO, 2004
<b><i>HOLOTHUROIDEA</i></b>			
<i>Holothuria atra</i>	0,42	0,181034	UTHICKE <i>et al.</i> , 2001
<i>Stichopus chloronotus</i>	0,19	0,058642	UTHICKE <i>et al.</i> , 2001
<b><i>OPHIUROIDEA</i></b>			
<i>Ophiomusium lymani</i>	0,166	0,04976	AYALA & VALENTINE, 1974

Os equinodermos são um grupo de organismos bem abundante e apresentam grandes densidades populacionais (MATSUOKA *et al.*, 1995). Considerando que as taxas de mutação efetiva são semelhantes para as espécies de equinodermos, pode-se prever que um estudo populacional deveria revelar um tamanho efetivo de população semelhante para as espécies da tabela, se os níveis de variação gênica observados são resultado do acúmulo de mutações seletivamente neutras devido à ação da deriva genética. Contudo, estes valores são apenas especulativos devido aos erros associados à estimativa de heterozigosidade.

CAMPOS VILLAÇA (1988) relata que as populações de *P. gaimardi* estudadas na região de Cabo Frio apresentam grandes densidades. Desta forma, o modelo mais adequado

para explicar os elevados níveis de variação gênica nesta espécie parece ser o neutralista. Contudo, seria necessária a existência de dados mais precisos a respeito do tamanho populacional. Com dados desta natureza seria possível realizar um teste mais preciso da hipótese neutralista como explicação para os níveis de variação nesta espécie.

### 5.3- Variação gênica interpopulacional

Muitos estudos abordam a importância da dispersão das larvas na realização do fluxo gênico entre populações de invertebrados marinhos (BURTON, 1983; HEDGECOCK, 1986; SOLÉ-CAVA *et al.*, 1992). Em organismos marinhos com ampla distribuição se espera uma pequena variação espacial nas frequências gênicas por causa da elevada capacidade de dispersão e da aparente falta de barreiras nos oceanos. Índices de estruturação elevados são esperados para populações que possuem uma baixa capacidade de dispersão larvar. Por exemplo, DURAN *et al.*, (2004b) encontraram um índice de estruturação igual a 0,180 para a espécie de esponja *Crambe crambe* que apresenta dispersão mediada por larvas lecitotróficas. Por outro lado, em espécies que possuem uma alta capacidade de dispersão espera-se encontrar baixa estruturação gênica. Estudos com o mexilhão *Perna canaliculus* evidenciaram baixa estruturação em populações distantes até 2000 Km ( $F_{st} = 0,002$ , APTE & GARDNER, 2001). Do mesmo modo, a espécie de holotúria *Holothuria nobilis* que também se dispersa a partir de larvas planctotróficas apresentou um índice de estruturação igual a 0,0064 (UTHICKIE & BENZIE, 2003), não significativamente diferente de zero, entre populações do Pacífico e do Índico.

A relação entre capacidade de dispersão e fluxo gênico nem sempre acontece. Não é raro encontrar trabalhos demonstrando elevados índices de estruturação para espécies de reprodução sexuada e larvas planctotróficas. O fluxo gênico de invertebrados marinhos pode ser limitado tanto por barreiras como salinidade, temperatura, correntes, ondas, disponibilidade de alimento e predação (HEDGECOCK, 1986) quanto por seleção pós assentamento (BURTON, 1983).

WATERS & ROY (2004) encontraram um valor de  $F_{st}$  significativo (0,072) na análise de populações da estrela do mar *Patiriella regularis* localizadas ao norte e ao sul do fenômeno da ressurgência que ocorre na região da Nova Zelândia. Do mesmo modo, SMITH (1988), estudando a espécie *Perna canaliculus* na mesma região, também

encontrou diferenças entre populações localizadas mais ao norte e mais ao sul, explicando os seus resultados pela ação de correntes.

A região estudada nesta dissertação é afetada diretamente pelo fenômeno da ressurgência, que ocorre intensamente no verão na região de Cabo Frio (KNOPPERS *et al.*, 2002). Este fenômeno causa alterações no meio físico-químico (salinidade, temperatura, turbidez) e biótico (aumento da produtividade em toda cadeia alimentar). Desta forma, é possível imaginar que esta barreira física possa estar exercendo uma limitação ao fluxo gênico da espécie *P. gaimardi*, como foi observado nos trabalhos de WATERS E ROY (2004) e SMITH (1988). Contudo, o índice de estruturação de Weir & Cockerham encontrado para as populações de *P. gaimardi* foi moderado e não significativo ( $\theta = 0,0451$ ), evidenciando que as nove populações estudadas não estão estruturadas.

Outros resultados que também evidenciam o elevado nível de fluxo gênico entre as populações estudadas nesta dissertação são os valores de  $\theta$  pareados, o número de migrantes por geração e os gráficos de dispersão em função de  $\theta$  (ver Tabela XIII e Figuras 10 e 11, páginas 78 e 79, Resultados). Os valores de  $\theta$  dois a dois encontrados entre as populações foram baixos, do mesmo modo que o número de migrantes por geração entre as populações foi elevado. Os gráficos mostram que apesar da correlação entre os valores de  $\theta$  e as distâncias geográficas estarem positivamente correlacionados, esta correlação é muito baixa e não significativa. Os grandes tamanhos populacionais quando resultados de um elevado nível de fluxo gênico através da distribuição do organismo é uma razão para se esperar uma baixa mudança nas frequências gênicas em espécies marinhas com ampla capacidade de dispersão (BENZIE, 1999).

Foram realizados estudos com três espécies de equinodermos na região de Cabo Frio: *A. lixula* e *P. gaimardi* (Echinoidea) e *C. tenuispina* (Asteroidea) (PAZOTO, 2004; VENTURA *et al.*, 2004; DUARTE, 2005; PINHEIRO, 2005; PINHEIRO *et al.*, 2005; PAZOTO *et al.*, 2005). Embora, nesses trabalhos, os índices de estruturação se apresentassem de moderados a altos, eles se revelaram não significativos quando submetidos a uma análise por *bootstrap*, com reamostragem dos *loci*.

As identidades gênicas encontradas entre as populações aqui estudadas são elevadas, quando não consideramos os valores encontrados para Prainha. A população de

Prainha apresentou os menores valores de identidade gênica em relação às demais populações.

A população de Prainha apresenta maior distância gênica em relação às demais devido, principalmente, à diferença de frequências gênicas encontradas para o *locus Pgm*. Neste *locus*, o alelo mais freqüente (A) é o alelo que aparece em pequenas proporções nas demais populações (ver Figura 9, página 73, Resultados). Todavia, como já discutido anteriormente, as diferenças encontradas entre as frequências gênicas do *locus Pgm* não são significativas, além disso, a estruturação encontrada entre as populações é não significativa. Visto isso, podemos considerar que os baixos valores de identidade observados.

Os poucos trabalhos realizados em mesoescala demonstram, de uma maneira geral, uma adequação ao modelo alta dispersão-baixa estruturação. Por exemplo, BENZIE & WAKEFORD (1997) que estudaram seis populações de *A. planci* na Grande Barreira de Recifes da Austrália (distância máxima de 130 Km), encontraram que, para nove *loci* enzimáticos, os resultados evidenciavam homogeneidade entre as populações analisadas ( $F_{ST} = 0,001$ , não significativo). UTHICKE *et al.*, (1998) trabalharam com populações de *Holothuria (Halodeima) atra* também da Grande Barreira de Recifes da Austrália, em uma distância de aproximadamente 170 Km. Os resultados de 5 *loci* aloenzimáticos mostraram populações significativamente estruturadas ( $F_{ST} = 0,091$ ). Nesse caso, contudo, devido, possivelmente, à reprodução assexuada (por fissão) apresentada por essa espécie. UTHICKE *et al.*, (2001) analisaram, ainda, também na região da Austrália, quatro populações de *H. atra*, para seis *loci* enzimáticos e cinco populações de *Stichopus chloronotus*, para cinco *loci* enzimáticos. Nesse caso, as populações das duas espécies não se apresentaram estruturadas ( $F_{ST} = 0,06$  e  $F_{ST} = 0,306$ , respectivamente). O grau de estruturação de *S. chloronotus* é elevado, mas não foi considerado significativo após teste realizado pela técnica de reamostragem de *bootstrap*.

HUNT (1993) estudou duas espécies do gênero de estrela do mar *Patiriella* na região da Austrália, amostrando em 270 Km de costa. *P. calcar* é uma estrela que se reproduz por larvas planctotróficas e por isso possui um elevado potencial de dispersão. *P. exigua*, por outro lado, se reproduz a partir de ovos que se desenvolvem fixos no costão. Cinco *loci* de aloenzimas em seis populações de *P. calcar* e onze populações de *P. exigua* foram investigados. Os resultados evidenciaram diferenças de estruturação gênica conforme

o esperado. *P. calcar* apresentou um baixo grau de estruturação ( $F_{ST} = 0,001$ ), enquanto *P. exígua* apresentou populações altamente estruturadas ( $F_{ST} = 0,462$ ).

O presente estudo encontrou que as populações de *P. gaimardi* amostradas em nove localidades ao longo de aproximadamente 160 Km da costa do Rio de Janeiro para nove *loci* enzimáticos não se apresentam estruturadas, portanto, a dispersão dessa espécie tem sido suficiente para garantir o fluxo gênico na área amostrada. Este resultado está de acordo com os encontrados nos outros trabalhos com equinodermos amostrados na mesma escala, com número de *loci* semelhantes e usando a mesma técnica.

## **6- CONCLUSÕES**

- \* O fenômeno de deficiência de heterozigotos, comum em invertebrados marinhos, foi observado na espécie *Parcentrotus gaimardi*;
- \* As populações de *P. gaimardi* apresentaram elevados níveis de variação gênica que são comparáveis com os de outros invertebrados marinhos e podem ser explicados pelo modelo neutralista;
- \* A dispersão das larvas da espécie *P. gaimardi* tem sido suficiente para garantir o fluxo gênico em mesoescala e prevenir a estruturação das suas populações no litoral do Estado do Rio de Janeiro.

## **7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- ADDISON, J.A. & HART, M.W. 2004. Analysis of population genetic structure of the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) using microsatellites. *Marine Biology* 144: 243-251.
- APTE, S. & GARDNER, J.P.A. 2001. Absence of population genetic differentiation in the New Zealand greenshell mussel *Perna Canaliculus* (Gmelin, 1791) as assessed by allozyme variation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 258: 173-194.
- ARCULEO, M.; BRUTTO, S.L.; PANCUCCI, M.P.; CAMMARATA, M. & PARRINALLO, N. 1998. Allozyme similarity in two morphologically distinguishable populations of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata) from distinct areas of the Mediterranean coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 78: 231-238.
- ARNDT, A.; MARQUEZ, C.; LAMBERT, P. & SMITH, M.J. 1996. Molecular phylogeny of eastern Pacific sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) based on mitochondrial DNA sequence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6: 425-437.
- ARNDT, A. & SMITH, M.J. 1998. Genetic diversity and population structure in two species of sea cucumber: differing patterns according to mode of development. *Molecular Ecology* 7: 1053-1064.
- AU, D.W.T.; REUNOV, A.A. & WU, R.S.S. 2001. Reproductive impairment of sea urchin upon chronic exposure to cadmium. Part II: Effects on sperm development. *Environmental Pollution* 111: 11-20.
- AYALA, F.J. & VALENTINE, J.W. 1974. Genetic variability in the cosmopolitan deep-water ophiuran *Ophiomusium lychni*. *Marine Biology* 27: 51-57.
- AYALA, F.J. 2000. Neutralism and selectionism: the molecular clock. *Gene* 261: 27-33.
- AYALA, F.J.; VALENTINE, J.W.; HEDGECOCK, D. & BARR, L.G. 1975. Deep-sea asteroids: high genetic variability in a stable environment. *Evolution* 29: 203-212.

- BARCELLOS, C.F. 2004. *Variações morfológicas e reprodutivas de Paracentrotus gaimardi (Blainville, 1825) (Echinodermata: Echinoidea) em três populações na costa brasileira*. Dissertação de mestrado. Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 55p.
- BARIC, S. & STURMBAUER, C. 1999. Ecological parallelism and cryptic species in the genus *Ophiothrix* derived from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11: 157-162.
- BARNES, D.K.A. & CROOK, A.C. 2001a. Implications of temporal and spatial variability in *Paracentrotus lividus* populations to the associated commercial coastal fishery. *Hydrobiologia* 465: 95-102.
- BARNES, D.K.A. & CROOK, A.C. 2001b. Quantifying behavioural determinants of the coastal European sea-urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Biology* 138: 1205-1212.
- BEAUMONT, A.R. & BEVERIDGE, C.M. 1984. Electrophoretic survey of genetic variation in *Pecten maximus*, *Chlamys opercularis*, *C varia* and *C distorta* from the Irish Sea. *Marine Biology* 81: 299-306.
- BENZIE, J.A.H. 1999. Major genetic differences between crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) in the Indian and Pacific Oceans. *Evolution* 53: 1782-1795.
- BENZIE, J.A.H. 2000. The detection of spatial variation in the widespread marine species: methods and bias in the analysis of population structure in the crown of thorns starfish (Echinodermata: Asteroidea). *Hydrobiologia* 420: 1-14.
- BENZIE, J.A.H. & BALLMENT, E. 1994. Genetic differences among black-lipped pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) populations in the western Pacific. *Aquaculture* 127: 145-156.
- BENZIE, J.A.H. & WAKEFORD M. 1997. Genetic structure of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) on the Great Barrier Reef, Australia: comparison of two sets of outbreak populations occurring ten years apart. *Marine Biology* 129: 149-157.
- BENZIE, J.A.H. & WILLIAMS, S.T. 1997. Genetic structure of giant (*Tridacna maxima*) populations in the west Pacific is not consistent with dispersal by present-day ocean currents. *Evolution* 51: 768-783.

- BERMINGHAM, E. & LESSIOS, H.A. 1993. Rate variation of protein and mitochondrial DNA evolution as revealed by sea urchins separated by the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 90: 2734–2738.
- BILLIO, U.C. 2004. *Variação genética e morfológica em populações do mexilhão Perna perna (Linnaeus, 1758)*. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 136p.
- BORSA, P.; ZAINURI, M. & DELAY, B. 1991. Heterozygote deficiency and population structure in the bivalve *Ruditapes decussatus*. *Heredity* 66: 1-8.
- BOUDOURESQUE, C.F. & VERLAQUE, M. 2001. Ecology of *Paracentrotus lividus*. In: Lawrence, J.M. (ed.) *Edible sea urchin: Biology and Ecology*, pp. 177-216.
- BOUDOURESQUE, C.F. & YONESHIGUE, Y. 1987. Données préliminaires sur les peuplements phytobenthiques et sur les échinides herbivores de la région de Cabo-Frio (Bresil). *Nerítica* 2: 65-106.
- BREWER, J.F. 1970. *An introduction to isozyme techniques*. Academic Press, New York.
- BRUSCA, R.C. & BRUSCA, G.J. 2003. *Invertebrates*. Sinauer Associates, INC Publisher, Sunderland, Massachussets. 936p.
- BURTON, R.S. 1983. Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine Biology Letters* 4: 193-206.
- CAMPOS VILLAÇA, R. 1988. *Le phytobenthos infralittoral des biotopes sciaphiles dans la région d'upwelling de Cabo Frio (Bresil)*. Tese de Doutorado. Faculté des Sciences de Luminy, Université d'Aix-Marseille II, Soutenue. 217p.
- CAMPOS VILLAÇA, R. & YONESHIGUE, Y. 1987. Données préliminaires sur le comportement alimentaire de *Paracentrotus gaimardii* dans la région de Cabo Frio (Bresil). In: Boudouresque, C.F. (ed.) *Colloque International sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*. GIS Posidoinie publ., Marseille, pp. 125-138.
- CARLINI-GARCIA, L.A.; VENCOSKY, R. & COELHO, A.S.G. 2001. Método Bootstrap aplicados em níveis de reamostragem na estimação de parâmetros genéticos populacionais. *Scientia Agricola* 58: 785-793.

- CHENUIL, A. & FÉRAL, J.P. 2001. Sequences of mitochondrial DNA suggest that *Echinocardium cordatum* is a complex of several sympatric or hybridizing species: a pilot study. In: Féral & David (eds.) *Ecchinoderm research 2001*, pp. 15-21
- DEBENHAM, P.; BRZEZINSKI M.,;FOLTZ K. & GAINES S. 2000. Genetic structure of populations of the red sea urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 253:49–62.
- DIEHL, W.J. & BIESIOT, P.M. 1994. Relationships between multilocus heterozygosity and morphometric indices in a population of the deep-sea red crab *Chaceon quinquedens* (Smith). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 182: 237-250.
- DUARTE, M.R. 2005. *Padrão de variação gênica em morfotipos e populações de Paracentrotus gaimardi (Blainville, 1825) (Echinodermata: Echinoidea) do litoral do Rio de Janeiro*. Monografia de Bacharelado. Departamento de Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 53p.
- DUARTE, M.R.; VENTURA, C.R.R. & SILVA, E.P. 2006. Morfotipos de *Paracentrotus gaimardi* (Blainville, 1825) (Echinodermata: Echinoidea) constituem a mesma espécie? In: *I Congresso Brasileiro de Biologia Marinha (Volume II)*, 15 a 19 de maio de 2006, Niterói, RJ, p.102.
- DURAN, S.; PALACÍN, C.; BECERRO, M.A.; TURON, X. & GIRIBETS, G. 2004a. Genetic diversity and population structure of the commercially harvest sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). *Molecular Ecology* 13: 3317-3328.
- DURAN, S.; PASCUAL, M.; ESTOUP, A. & TURON, X. 2004b. Strong population structure in the marine sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) as revealed by microsatellite markers. *Molecular Ecology* 33: 511-522.
- ESPEJO, A.; GALLEGUILLOS, R. & FERRADA, S. 2003. Isozyme análisis in the sea urchin *Loxechinus albus*. In: Lawrence, J. M. & Guzmán, O. (eds). *Proceedings of the International conference on sea urchin: Fisheries and Aquaculture*, Puerto Varas, pp 134-140.

- FÉRAL, J.; BARRÉ, A.; VILLARD, A-M & CHENUIL, A. 2001. What is the smallest distance of genetic structuring in the brooding ophiuroid *Amphipholis squamata* from the Western Mediterranean? In: Féral, J. & David, B. (eds). *Proceedings of the sixth European Conference on Echinoderm Research*, France, A.A. Balkema, pp 23–27.
- FÉRAL, J.P.; POULIN, E. & OUBELKHEIR, K. 1998. Geographic and genetic differentiation of *Echinocardium cordatum* (Pennat) - The current of a complex question: The status of *Echinocardium fenauxi* (Péquignat). In: Mooi, R. & Telford, M. (eds). *Proceedings of the 9th International Echinoderm Conference*, USA, A.A. Balkema, San Francisco, pp 647-649.
- FÉRAL, J.P.; POULIN, E.; DERELLE, E.; GALLARDO, S. & CHAMBON, C. 1995. Genetic differentiation of *Echinocardium cordatum* as revealed by allozymes and RNA sequencing. In: Emson, Smith and Campbell (eds) *Echinoderms: Balkema, Rotterdam*, pp 41-42.
- FÉRAL, J.P.; VILLARD, A.M.; DUPONT, S. & MALLEFET, J. 2000. Morphological, physiological and genetic variability of the ophiuroid *Amphipholis squamata* from the lagoon system of Oliveri-Tindari (Sicily). In: Baker, M. (ed). *Proceedings of the 10th International Echinoderm Conference*, Dunedin, New-Zealand, A.A. Balkema, pp 261-266.
- FLOWERS, J.M.; SCHROETER, S.C. & BURTON, R.S. 2002. The recruitment sweepstakes has many winners: genetic evidence from the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Evolution* 56:1445–1453.
- FOLTZ, D.W. & STICKLE, W.B. 1994. Genetic structure of four species in the *Leptasterias hexactis* complex along the Pacific coast of North America. In: David, B.; Guille, A.; Féral, J. & Roux, M. (eds). *Proceedings of the Eighth International Echinoderm Conference*, Dijon, France, A.A. Balkema, pp291–296.
- FOLTZ, D.W.; STICKLE, W.B.; CAMPAGNARO, E.L. & HIMEL, A.E. 1996. Mitochondrial DNA polymorphisms reveal additional genetic heterogeneity within the *Leptasterias hexactis* (Echinodermata: Asteroidea) species complex. *Marine Biology* 125: 569-578.

- FUTUYMA, D.J. 2002. *Biologia Evolutiva*. 2º Edição. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, São Paulo, 631p.
- GARDNER, J.P.A.; EYLES, R.F. & PANDE, A. 1996. Biochemical-genetic variation in a wild and a cultured population of the greenshell mussel, *Perna canaliculus*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 30: 435-441.
- GILLESPIE, J. 1974. The role of environmental grain in the maintenance of genetic variation. *American Naturalist* 108: 831-836.
- GOUDET, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- HAHN, J.; KISSINGER, J.C. & RAFF, R.A. 1995. Structure and evolution of Cyl cytoplasmic actin-encoding genes in the indirect- and direct-developing sea urchins *Heliocidaris tuberculata* and *Heliocidaris erythrogramma*. *Gene* 153: 219-224.
- HARAMOTO, S.; KOMATSU, M. & YAMAZAKI, Y. 2006. Populations genetic structure of the fissiparous seastar *Coscinasterias acutispina* in the Sea of Japan. *Marine Biology* 149: 813-820.
- HARRIS, H. 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 164: 298-310.
- HARRIS, H. & HOPKINSON, D.A. 1978. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North Holland Publishing Company, Amsterdam, 368p.
- HART, M.W.; BYRNE, M. & JOHNSON, S.L. 2003. *Patiriella pseudoexigua* (Asteroidea: Asterinidae) a cryptic species complex revealed by molecular and embryological analyses. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 83: 1109-1116.
- HARTL, D.L. 1980. *Principles of population genetics*. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates Inc Publishers, 488p.

- HEDGECOCK, D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates. *Bulletin of Marine Science* 39: 550-564.
- HEREU, B., ZABALA, M.; LINARES, C. & SALA, E. 2004. Temporal and spatial variability in settlement of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the NW Mediterranean. *Marine Biology* 144: 1011-1018.
- HOWELL, K.L.; ROGERS, A.D.; TYLER, P.A. & BILLETT, D.S.M. 2004. Reproductive isolation among morphotypes of the Atlantic seastar species *Zoroaster fulgens* (Asteroidea: Echinodermata). *Marine Biology* 144: 977-984.
- HRINCEVICH, A.W. & FOLTZ, D.W. 1996. Mitochondrial DNA sequence variation in a sea star (*Leptasterias* spp.) species complex. *Molecular Phylogeny and Evolution* 6: 408-415.
- HUBBY, J.L. & LEWONTIN, R.C. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. I-The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 577-594.
- HUNT, A. 1993. Effects of contrasting patterns of larval dispersal on the genetic connectedness of local populations of two intertidal starfish, *Patiriella calcar* and *P. exigua*. *Marine Ecology Progress Series* 92: 179–186.
- KARAKO, S.; ACHITUV, Y.; PERL-TREVES, R. & KATCOFF, D. 2002. *Asterina burtoni* (Asteroidea; Echinodermata) in the Mediterranean and the Red Sea: Does asexual reproduction facilitate colonization? *Marine Ecology Progress Series* 234: 139-145.
- KATOH, M. & HASHIMOTO, K. 2003. Genetic similarity of outbreak populations of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) that were 15 years apart in Okinawa, Japan. *Coral Reefs* 23: 178-180.

- KINJO, S.; SHIRAYAMA, Y. & WADA, H. 2004. Phylogenetic relationships and morphological diversity in the family Echinometridae (Echinoida, Echinodermata). *In: Heinzeller, T. & Nibelsick, J. N. (eds). Munchen Proceedings of the 11th International Echinoderm Conference, Munich, Germany, A.A. Balkema, pp. 527–530.*
- KIMURA, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217: 624-626.
- KNOPPERS, B.; EKAU, W.; FIGUEIREDO, A.G. & SOARES-GOMES, A. 2002. Zona costeira e plataforma continental do Brasil. *In: Soares-Gomes, A. & Pereira, R.C. (eds). Biologia Marinha. Interciências, Rio de Janeiro, pp. 353-361.*
- KOHN, M.H.; MURPHY, W.J.; OSTRANDER, E.A.; WAYNE, R.K. 2006. Genomics and conservation genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 629-637.
- KREBS, C.J. 1989. *Ecological methodology*. Harper & Row, Publishers, New York, 654p
- KWAST, K.E.; FOLTZ, D.W. STICKLE, W.B. 1990. Population genetics and systematics of the *Leptasterias hexactis* (Echinodermata: Asteroidea) species complex. *Marine Biology* 105: 477-489.
- LESSIOS, H.A. 1981. Divergence in allopatry - molecular and morphological differentiation between sea urchins separated by the Isthmus of Panama. *Evolution* 35: 618-634
- LESSIOS, H.A., KANE, J. & ROBERTSON, D.R. 2003. Phylogeography of the pantropical sea urchin *Tripneustes*: Contrasting patterns of population structure between oceans. *Evolution* 57(9): 2026-2036.
- LEVINTON, J.S. 1973. Genetic variation in a gradient of environmental variability: marine Bivalvia (Mollusca). *Science* 180: 75-76.
- LEVINTON, J.S. 1975. Levels of genetic polymorphism at two enzyme encoding loci in eight species of the genus *Macoma* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Biology* 33: 41-47.
- LEWONTIN, R.C. 1991. 25 years ago in Genetics. Electrophoresis in the development of evolutionary genetics: milestone or millstone. *Genetics* 128: 657-662.



- LEWONTIN, R.C. & HUBBY, J.L. 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II-Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 569-595.
- LOPES, E.M. 2006. *Desenvolvimento inicial do ouriço-do-mar Paracentrotus gaimardi (Echinodermata: Echinoidea), compatibilidade gamética e comparação morfológica entre os morfotipos*. Monografia de Bacharelado. Departamento de Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 47p.
- MANCHENKO, G.P.; DAUTOVA, T.N. & LATYPOV, Y.Y. 2000. High levels of genetic divergence between sympatric color morphs of the littoral sea-anemone *Anthopleura orientalis* (Anthozoa: Actinaria). *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 737-750.
- MANCHENKO, G.P. & YAKOVLEV, S.N. 2001. Genetic divergence between three sea urchin species of the genus *Strogolocentrotus* from the Sea of Japan. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 31-44.
- MARCUS, N.H. 1977. Genetic variation within and between geographically separated populations of the sea-urchin, *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole* 153, 560-576.
- MATSUBARA, M.; WADA, H. & KOMATSU, M. 2004. Phylogenetic affinity between Asterinidae and Solasteridae. In: Heinzeller & Nebelsick (eds) *Echinoderms: München*, pp.531-536.
- MATSUOKA, N. 1981. Phylogenetic relationships among five species of starfish of the genus *Asterina*: an electrophoretic study. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 70: 739-743.
- MATSUOKA, N. 1985. Biochemical phylogeny of the sea-urchins of the family Toxopneustidae. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 80: 767-771.

- MATSUOKA, N. 1989. Biochemical systematics of four sea-urchin species of the family Diadematidae from Japanese waters. *Biochemical Systematics and Ecology* 17: 423-429.
- MATSUOKA, N. & ASANO, H. 2003. Genetic variation in northern Japanese populations of the starfish *Asterina pectinifera*. *Zoological Science* 20: 985-988.
- MATSUOKA, N.; INAMORI, M. & SUGAWARA, M. 1993. High genetic variability in the starfish *Distolasterias nippon* revealed by enzyme electrophoresis. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 104: 75-79.
- MATSUOKA, N.; KOHYAMA, K. & ASANO, H. 1995. Genetic distance and enzyme variation in local populations of two echinoderms from Japanese waters. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 110: 225-233.
- MATSUOKA, N. & NAKAMURA, Y. 1990. Enzyme variation within the population of the sea-urchin, *Glyptocidaris crenularis*, from Japanese waters. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 96: 335-338.
- MATSUOKA, N. & NAKAMURA, Y. 1991. Genetic distance and protein polymorphism in two sea-urchin species of the order Arbacioida and implications for their evolution. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 98: 21-27.
- MATSUOKA, N. & SUZUKI, H. 1987. Electrophoretic study on the taxonomic relationship of the two morphologically very similar sea-urchins, *Echinostrephus aciculatus* and *E. molaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 88: 637-641.
- MATSUOKA, N. & SUZUKI, H. 1989. Genetic variation and differentiation in six local Japanese populations of the sea-urchin, *Anthocidaris crassispina*: electrophoretic analysis of allozymes. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 92: 1-7.

- MATSUOKA, N.; YOSHIDA, K.; FUKUDA, K. & SHIGEI, M. 1991. Genetic variation in the starfish *Coscinasterias acutispina*. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 99: 893-898.
- McCARTNEY, M.A.; KELLER, G. & LESSIOS, H.A. 2000. Dispersal barriers in tropical oceans and speciation in Atlantic and eastern Pacific sea urchins of the genus *Echinometra*. *Molecular Ecology* 9: 1391– 1400.
- McCORMACK, G.P.; POWELL, R. & KEEGAN, B.F. 2000. Comparative analysis of two populations of the brittle star *Amphiura filiformis* (Echinodermata: Ophiuroidea) with different life history strategies using RAPD markers. *Marine Biotechnology* 2: 100-106.
- McMILLAN, W.O.; RAFF, R.A. & PALUMBI, S.R. 1992. Population genetic consequences of developmental evolution in sea urchins (genus *Heliocidaris*). *Evolution* 46: 1299-1312.
- MLADENOV, P.V. & EMSON, R.H. 1990. Genetic structure of population of two closely related brittle stars with contrasting asexual life histories, with observations on the genetics structure of a second asexual specie. *Marine Biology* 104: 265-274.
- MOBERG, P.E. & BURTON, R.S. 2000. Genetic heterogeneity among adult and recruit red sea urchins, *Strongylocentrotus franciscanus*. *Marine Biology* 136: 773-784.
- MORTENSEN, T.H. 1943. *Monograph of the Echinoidea.III. 3. Camarodonta. II.* 446pp, 215fig. Atlas, 66 est.
- NASH, W.J.; GODDARD, M. & LUCAS, J.S. 1988. Population genetic studies of the crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci* (L.), in the Great Barrier Reef region. *Coral Reefs* 7:11–18.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NEVO, E. 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theoretical Population Biology* 13: 121-177.

- NISHIDA, M. & LUCAS, J.S. 1988. Genetic differences between geographic populations of the crown-of-thorns starfish throughout the Pacific region. *Marine Biology* 98: 359–368.
- PALUMBI, S.R. 1996 What can molecular genetics contribute to marine biogeography? An urchin's tale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 203: 75–92.
- PALUMBI, S.R.; GRABOWSKY, G.; DUDA, T.; GEYER, L. & TACHINO, N. 1997. Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. *Evolution* 51: 1506-1517.
- PALUMBI, S.R. & KESSING, B.D. 1991. Population biology of the trans-artic exchange: MtDNA sequence similarity between Pacific and Atlantic sea urchins. *Evolution* 45: 1790-1805.
- PALUMBI, S.R. & WILSON, A.C. 1990. Mitochondrial DNA diversity in the sea urchins *Strongylocentrotus purpuratus* and *S. droebachiensis*. *Evolution* 44: 403-415.
- PAZOTO, C.E.M. 2004. *Genética de populações de Coscinasterias tenuispina (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Asteroidea) no litoral do Rio de Janeiro*. Monografia Bacharelado, Departamento de Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 66p.
- PAZOTO, C.E.M.; DUARTE, M.R.; PINHEIRO, A.A.; VENTURA, C.R.R. & SILVA, E.P. 2005. Estrutura e variação gênica de três espécies de equinodermos no litoral Rio de Janeiro: *Coscinasterias tenuispina* (Asteroidea) e *Arbacia lixula* e *Paracentrotus gaimardi* (Echinoidea). In: *II Congresso Brasileiro de Oceanografia*, 09 a 12 de outubro de 2005, Vitória, ES, CD-Rom.
- PERRIN, C.; ROY, M.S. & WING, S.R. 2001. Genetic differentiation amongst populations of sea urchin *Evechinus chloroticus* and the sea star *Coscinasterias muricata* in New Zealand's fiords. In: Féral, J. & David, B. (eds). *Proceedings of the sixth European Conference on Echinoderm Research*, France, A.A. Balkema, pp7-13.

- PINHEIRO, A.A. 2005. *Variação gênica da espécie Arbacia lixula (Linnaeus, 1758) (Echinodermata: Echinoidea) em três populações do Litoral o Estado do Rio de Janeiro* Monografia Bacharel em Genética. Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 44p.
- PINHEIRO, A.A.; VENTURA, C.R.R. & SILVA, E.P. 2005. Padrão de variação gênica para a espécie *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758) (Echinodermata: Echinoidea) em três populações do litoral do Rio de Janeiro. In: *51º Congresso Brasileiro de Genética Marinha*, Águas de Lindóia, SP. CD-Rom
- POULIK, M.D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180: 1477-1479.
- POULIN, E. & FÉRAL, J. 1993. The fiction and the facts of Antarctic brood protecting: Population genetics and evolution of schizasterid echinoids. In: David, B.; Guille, A.; Féral, J. & Roux, M. (eds). *Proceedings of the Eighth International Echinoderm Conference*, Dijon, France, A.A. Balkema. 837 – 844.
- POULIN, E. & FÉRAL, J. 1998. Genetic structure of brooding sea urchin *Abatus cordatus*, an endemic of the subantarctic Kerguele Island. In: Mooi & Telford (eds.) *Echinoderms: San Francisco*, pp. 793-795.
- RAYMOND, M. & ROUSSET, F. 2001. GENEPOP 3.3: Population genetics software for exact tests and ecumenicism. <ftp://cefe.cnrs-mop.fr>.
- RAYMOND, M.; VÄÄNTÖ, R.L.; THOMAS, F.; ROUSSET, F.; MEEÜS, T. & RENAUD, F. 1997. Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* species complex revisited. *Marine Ecology Progress Series* 156: 225-237.
- RICE, W.R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- RICHARDSON, B.J.; BAVERSTOCK, P.R. & ADAMS, M. 1986. *Allozyme electrophoresis – a handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press, Sydney, 410p.
- ROUSSET, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219-1228.

- ROUSSET, F. & RAYMOND, M. 1995. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics* 140: 1413-1419.
- RUPPERT, E.E. & BARNES, R.D. 1996. *Zoologia de Invertebrados*. 6ª edição. Roca LTDA, São Paulo, 1029p.
- SANCHEZ-ESPAÑA, A.I.; MARTINEZ-PITA, I. & GARCIA, F.J. 2004. Gonadal growth and reproduction in the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) from southern Spain. *Hydrobiologia* 519: 61-72.
- SCHAEFFER, S.W.; KELLER, E.C.J. & BUROKER, N.E. 1985. Population genetics of *Melampus bidentatus* (Gastropoda: Pulmonata): the effect of planktonic development on gene flow. *Genetica* 66: 223-229.
- SCHMIDT, P.S. & RAND, D.M. 2001. Adaptive maintenance of genetic polymorphism in an intertidal barnacle: Habitat and life-stage-specific survivorship of Mpi genotypes. *Evolution* 55: 1336-1344.
- SELANDER, R.K.; SMITH, M.H.; YANG, S.Y.; JOHNSON, W.E. & GENTRY, J.R. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I: Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Studies in Genetics VI*. University of Texas Publishers, Texas, pp49-70.
- SILVA, E.P. 1991. *Estudos em genética bioquímica com os moluscos bivalves Perna perna (Linne, 1758) (Mytilidae) e Anomalocardia brasiliana (Gmelin, 1791) (Veneridae)*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 181p.
- SILVA, E.P. 2002. Genética Marinha. In: Soares-Gomes, A. & Pereira, R.C. (eds). *Biologia Marinha*. Interciências, Rio de Janeiro, pp. 335-351.
- SILVA, E.P. 2004. Marcadores moleculares no rastreamento da bioinvasão. In: Silva, J.S.V; Souza, R.C.C.L.. (Org.). *Água de Lastro e Bioinvasão*. Rio de Janeiro, pp. 191-203.
- SILVA, E.P. & RUSSO, C.A.M.. 2000. Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. *Hydrobiologia* 420: 119-135.

- SIN, F.Y.T., KHOO, J. & PARKER, G.R. 1990. Enzyme Variation between Littoral and Sublittoral Populations of the Green-Lipped Mussel *Perna canaliculus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 95: 419-422.
- SKIBINSKI, D.O.F. 1994. The potential of DNA techniques in the population and evolutionary genetics of aquatic invertebrates. *In: Beaumont, A.R. (ed.) Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman & Hall, London, pp. 177-199.
- SKÖLD, M.; BARKER, M.F. & MLADENOV, P.V. 2002. Spatial variability in sexual and asexual reproduction of the fissiparous seastar *Coscinasterias muricata*: the role of food and fluctuating temperature. *Marine Ecology Progress Series* 233: 143-155.
- SKÖLD, M., WING, S.R. & MLADENOV, P.V. 2003. Genetic subdivision of a sea star with high dispersal capability in relation to physical barriers in a fjordic seascape. *Marine Ecology Progress Series* 250: 163-174.
- SLATKIN, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 789-792.
- SMITH, B.A. 1992. Echinoderm phylogeny: Morphology and molecules approach accord. *Trends in Ecology and Evolution* 7: 224-229.
- SMITH, P.J. 1988. Biochemical-genetic variation in the green-lipped mussel *Perna canaliculus* around New Zealand and possible implications for mussel farming. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 22: 85-90.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 1995. *Biometry*. Freeman, New York, 887p.
- SOLÉ-CAVA, A.M. 2001. Biodiversidade molecular e genética da conservação. *In: Matioli, S.R. (ed). Biologia Molecular e Evolução*, Holos Editora, São Paulo, pp. 172-191.
- SOLÉ-CAVA, A. M.; RUSSO, C.A.M. & SILVA, E.P. 1992. Fluxo gênico e estruturação em populações de invertebrados marinhos bênticos. *Revista Brasileira de Genética* 15: 274-279.

- SOLÉ-CAVA, A.M. ; SILVA, E.P. & LOBO-HAJDU, G. 2004. *Evolução*. Fundação Cecierj, Rio de Janeiro, v 2, 194p.
- SOLÉ-CAVA, A.M. & THORPE, J.P. 1991. High levels of genetic variation in natural populations of marine lower invertebrates. *Biological Journal of the Linnean Society* 44: 65-80.
- SOLFERINI, V.N. & SELIVON, D. 2001. Polimorfismos de isoenzimas. In: Matioli, S.R. (ed). *Biologia Molecular e Evolução*, Holos Editora, São Paulo, pp. 137-142.
- SPONER, R., DEHEYN, D. & ROY, R.S. 2001. Large genetic distances within a population of *Amphipholis squamata* (Echinodermata; Ophiuroidea) do not support color varieties as sibling species. *Marine Ecology Progress Series* 219: 169-175.
- SPONER, R.; ROY, M.S. & MLADENOV, P.V. 1998. Molecular evolution of *Amphipholis squamata* (Echinodermata: Ophiuroidea): High genetic differences among populations. In: Carnevali, M. D. C. & Bonasoro, F. (eds). *Proceedings of the Fifth European Conference on Echinoderms*, Milan, Italy, A. A. Balkema, pp405-408.
- STICKLE, W.B.; FOLTZ, D.W.; KATOH, M. & NGUYEN, H.L. 1992. Genetic structure and mode of reproduction of five species of sea stars (Echinodermata, Asteroidea) from the Alaska coast. *Canadian Journal of Zoology* 70: 1723- 1728.
- STICKLE, W.B.; LIU, L.-L. & FOLTZ, D.W. 1990. Allozyme and physiological variation in populations of sea urchins (*Strongylocentrotus spp.*). *Canadian Journal of Zoology - Revue Canadienne de Zoologie* 68: 144-149.
- SWOFFORD, D.L. & SELANDER, R.B. 1997. BIOSYS-2: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoresis data in population genetics and systematics. <http://lamar.colostate.edu>.
- TOMMASI, L.R. 1966. Lista dos equinóides recentes do Brasil. *Contribuições do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, Série Oceanografia Biológica*, 11: 1-50.
- TUTTLE, R.D. & LINDAHL, R. 1980. Genetic variability in three co-occurring forms of the genus *Othilia* (Echinaster). *Experientia* 36: 923-925.



- UTHICKE, S. & BENZIE, J.A.H. 2000. Allozyme electrophoresis indicates high gene flow between populations of *Holothuria (Microthele) nobilis* (Holothuroidea: Aspidochirotida) on the Great Barrier Reef. *Marine Biology* 137 (5-6): 819–825.
- UTHICKE, S. & BENZIE, J.A.H. 2001. Restricted gene flow between *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea) populations along the northeast coast of Australia and Solomon Islands. *Marine Ecology Progress Series* 216: 109-117.
- UTHICKE, S. & BENZIE, J.H.A. 2003. Gene flow and populations history in high dispersal marine invertebrates: mitochondrial DNA analysis of *Holothuria nobilis* (Echinodermata: Holothuroidea) populations from Indo Pacific. *Molecular Ecology* 12: 2635-2648.
- UTHICKE, S.; BENZIE, J.H.A. & BALLMENT, E. 1998. Genetic structure of the fissiparous populations of *Holothuria atra* on the Great Barrier Reef. *Marine Biology* 132: 141-151.
- UTHICKE, S.; BENZIE, J.H.A. & BALLMENT, E. 1999. Populations genetics of the fissiparous holothurian *Stichopus chloronotus* (Aspidochirotida) on the Great Barrier Reef, Australia. *Coral Reefs* 18: 123-132.
- UTHICKE, S.; CONNAND, C. & BENZIE, J.H.A. 2001. Populations genetics of the fissiparous holothurians *Stichopus chloronotus*, and *Holothuria atra* (Aspidochirotida): a comparison between the Torres Strait and La Reunion. *Marine Biology* 139: 257-265.
- VADAS, R.L. & BRISTOW, G. 1985. Genetic changes associated with bottleneck in an overharvested population of *Glycera dibranchiata* (Polychaeta). In: Gray J. S. & M. E. Christiansen (Eds.), *Marine Biology of Polar Regions and Effects of Stress on Marine Organisms*. John Wiley & Sons, University of Oslo, Norway, pp. 617-629.
- VENTURA, C.R. & BARCELLOS, C.F. 2004. Instantaneous comparison of reproductive and morphological traits of *Paracentrotus gaimardi* (Echinodermata: Echinoidea) along the Brazilian coast. In: Lawrence, J. M. & Gúzman, O. (eds). *Sea urchins: Fisheries and ecology*. Destech publ., Inc., Lancaster, Pennsylvania, pp. 156-163.

- VENTURA, C.R.R.; ALVES, S.L.S.; MAURICIO, C.E.P. & SILVA, E.P. 2004. Reproduction and population genetics of *Coscinasteria tenuispina* (Asteroidea: Asteroiidae) on the Brazilian coast. In: Heinzeller, T. & Nebelsick, J. N. (eds). *Munich Proceedings of the 11th International Echinoderm Conference*, Munich, Germany, A.A. Balkema, pp 73-77.
- VEUILLE, M. 2000. Genetics and the evolutionary process. *Life Sciences* 323: 1155-1165.
- WATERS, J.M., O'LOUGHLIN, M. & ROY, M.S. 2004a. Molecular systematics of some Indo-Pacific asterinids (Echinodermata, asteroidea): does taxonomy reflect phylogeny? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 872-878.
- WATERS, J.M., O'LOUGHLIN, M. & ROY, M.S. 2004b. Cladogenesis in a starfish species complex from southern Australia: evidence for vicariant speciation? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 236-245.
- WATERS, J.M. & ROY, M.S. 2004. Phylogeography of a high-dispersal New Zealand sea-star: does upwelling block gene-flow? *Molecular Ecology* 13: 2797-2806.
- WATTS, R.J.; JOHNSON, M.S. & BLACK, R. 1990. Effects of recruitment on genetic patchiness in the urchin *Echinometra mathaei* in western Australia. *Marine Biology* 105(1): 145-152.
- WEIR, B.S. & COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- WILLIAMS, S.T. & BENZIE J.A.H. 1998. Evidence of a biogeographic break between population of a high dispersal starfish: congruent regions within indo-west pacific defined by colormorphs, mtDNA, and allozymes data. *Evolution* 52: 87-99.
- ZOUROS, E.; ROMERO-DOREY, M. & MALLET, A.Z. 1988. Heterozygosity and growth in marine bivalves: further data and possible explanation. *Evolution* 42: 1332-1341.

#### **Sites consultados:**

<http://maps.google.com/> (acessado em 30/05/2006)

[http://static.flickr.com/85/257794072\\_59ec36cdc0.jpg](http://static.flickr.com/85/257794072_59ec36cdc0.jpg) (acessado em 31/01/2007)

[http://www.arraial.rj.gov.br/turismo/foto\\_galerias/Praias/images/prainha\\_00.jpg](http://www.arraial.rj.gov.br/turismo/foto_galerias/Praias/images/prainha_00.jpg) (acessado em 31/01/2007)

[http://www.bezezanativa.hpg.ig.com.br/imagens/fotos/Praia\\_do\\_Forno.jpg](http://www.bezezanativa.hpg.ig.com.br/imagens/fotos/Praia_do_Forno.jpg) (acessado em 31/01/2007)

<http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br> (acessado em 31/05/2006).

<http://www.louro.org/lagoa/indice2002/fotflorafauna/images/Paracentrotus%20lividus1.jpg> (acessado em 31/01/2007)

## APÊNDICES

**Apêndice A:** Frequências genotípicas das nove populações de *Paracentrotus gaimardi* analisadas.

Itaipu, Niterói					
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas				
<i>α-Est-1</i>	AA=6				
<i>α-Est-2</i>	AA=3	AB=6	BB=15	BC=6	
<i>α-Est-3</i>	AA=18	AB=13	BB=10		
<i>Mdh</i>	AA=10	AB=8	AC=1	BB=40	BC=3
<i>Pep</i>	AA=50				
<i>Pgi</i>	BB=4	BC=6	CC=32	CD=10	DD=2
<i>Pgm</i>	AA=1	AB=5	BB=8		
<i>Sod</i>	AA=109				
<i>Xod</i>	AA=21	AB=9	BB=2		

Prainha, Arraial do Cabo						
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas					
<i>α-Est-1</i>	AA=18					
<i>α-Est-2</i>	AA=2	AB=3	AC=1	BB=13	BC=4	CC=6
<i>α-Est-3</i>	AA=17	AB=14	BB=14			
<i>Mdh</i>	AA=9	AB=6	AC=3	BB=23	BC=4	
<i>Pep</i>	AA=47	AB=4				
<i>Pgi</i>	BB=2	BC=5	CC=11	CD=5	DD=1	
<i>Pgm</i>	AA=10	AB=1	BB=1			
<i>Sod</i>	AA=62					
<i>Xod</i>	AA=27	AB=6	BB=1			

Ferradura, Armação dos Búzios					
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas				
<i>α-Est-1</i>	AA=20	AB=1			
<i>α-Est-2</i>	AB=3	BB=26	BC=5	CC=2	
<i>α-Est-3</i>	AA=14	AB=17	BB=6		
<i>Mdh</i>	AA=1	AB=7	BB=35		
<i>Pep</i>	AA=48	AB=4			
<i>Pgi</i>	BB=4	BC=5	CC=15	CD=6	DD=2
<i>Pgm</i>	AA=3	AB=2	BB=5		
<i>Sod</i>	AA=58				
<i>Xod</i>	AA=22	AB=3			

Forno, Armação dos Búzios				
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas			
<i>α-Est-1</i>	AA=18			
<i>α-Est-2</i>	AA=3	AB=3	BB=19	BC=3
<i>α-Est-3</i>	AA=11	AB=20	BB=19	
<i>Mdh</i>	AA=22	AB=4	BB=27	
<i>Pep</i>	AA=65			
<i>Pgi</i>	BB=2	BC=4	CC=18	CD=3
<i>Pgm</i>	BB=4			
<i>Sod</i>	AA=69			
<i>Xod</i>	AA=11	AB=2	BB=5	



Forno, Arraial do Cabo				
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas			
<i>α-Est-1</i>	AA=9			
<i>α-Est-2</i>	AA=2	BB=19	BC=2	
<i>α-Est-3</i>	AA=10	AB=17	BB=13	
<i>Mdh</i>	AB=3	BB=25		
<i>Pep</i>	AA=92			
<i>Pgi</i>	BB=1	BC=3	CC=11	CD=4
<i>Pgm</i>	AA=1	AB=1	BB=3	
<i>Sod</i>	AA=96			
<i>Xod</i>	AA=7	AB=1	BB=4	

Ilha de Cabo Frio, Arraial do Cabo						
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas					
<i><math>\alpha</math>-Est-1</i>	AA=3					
<i><math>\alpha</math>-Est-2</i>	AB=1	BB=6	BC=3			
<i><math>\alpha</math>-Est-3</i>	AA=4	AB=14	BB=12			
<i>Mdh</i>	AA=2	AB=4	BB=12			
<i>Pep</i>	AA=77					
<i>Pgi</i>	AC=1	BB=3	BC=4	BD=1	CC=13	CD=2
<i>Pgm</i>	BB=2					
<i>Sod</i>	AA=77					
<i>Xod</i>	AA=3	BB=1				

Praia Vermelha, Rio de Janeiro					
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas				
<i><math>\alpha</math>-Est-1</i>	AA=8				
<i><math>\alpha</math>-Est-2</i>	AB=4	BB=12	BC=3		
<i><math>\alpha</math>-Est-3</i>	AA=10	AB=7	BB=20		
<i>Mdh</i>	AA=2	AB=4	BB=35		
<i>Pep</i>	AA=56				
<i>Pgi</i>	BB=4	BC=7	BD=1	CC=10	CD=2
<i>Pgm</i>	AB=1	BB=5			
<i>Sod</i>	AA=65				
<i>Xod</i>	AA=6	AB=2			

Peró, Cabo Frio			
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas		
<i>α-Est-1</i>	AA=6		
<i>α-Est-2</i>	AA=2	BB=16	BC=4
<i>α-Est-3</i>	AA=10	AB=20	BB=11
<i>Mdh</i>	AA=4	AB=4	BB=26
<i>Pep</i>	AA=69		
<i>Pgi</i>	BB=3	BC=3	CC=11
<i>Pgm</i>	AA=1	AB=1	BB=7
<i>Sod</i>	AA=68		
<i>Xod</i>	AA=11	AB=1	BB=1

Forte, Cabo Frio					
<i>Locus</i>	Frequências genotípicas				
<i>α-Est-1</i>	AA=13				
<i>α-Est-2</i>	AA=1	AB=1	BB=10	BC=3	
<i>α-Est-3</i>	AA=10	AB=10	BB=19		
<i>Mdh</i>	AA=2	AB=9	BB=31	BC=1	
<i>Pep</i>	AA=55				
<i>Pgi</i>	BB=3	BC=5	CC=3	CD=2	DD=1
<i>Pgm</i>	BB=6				
<i>Sod</i>	AA=68				
<i>Xod</i>	AA=14				

**Apêndice B:** Tabelas de contingência das frequências gênicas.

**1) Locus  $\alpha$ -Est-2:**

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	42	41,999
A + C	7	6,999	18	17,999
Total	38	38	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,54503 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	23	23
A + C	7	6,999	25	25
Total	38	38	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,75135 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	16	16
A + C	7	6,999	4	4
Total	38	38	20	20

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,75135 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	44	44
A + C	7	6,999	12	12,002
Total	38	38	56	56,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,08412 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	60	60,001
A + C	7	6,999	12	11,999
Total	38	38	72	72

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,75141 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	24	24
A + C	7	6,999	6	5,98
Total	38	38	30	29,98

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,70648 \times 10^{-5}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	31	31,001	36	36
A + C	7	6,999	8	8,002
Total	38	38	44	44,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,7501 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	31	31,001	40	40
<b>A + C</b>	7	6,999	6	6
<b>Total</b>	38	38	46	46
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,75135 \times 10^{-7}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Forno-Arraial		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	33	33
<b>A + C</b>	6	6	25	25
<b>Total</b>	46	46	58	58
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$				

	Forno-Arraial		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	42	41,999
<b>A + C</b>	6	6	18	17,999
<b>Total</b>	46	46	60	59,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,937 \times 10^{-8}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Forno-Arraial		Ilha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	16	16
<b>A + C</b>	6	6	4	4
<b>Total</b>	46	46	20	20
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$				

	Forno-Arraial		Forno-Búzios	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	44	44
<b>A + C</b>	6	6	12	12,002
<b>Total</b>	46	46	56	56,002
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,333 \times 10^{-7}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Forno-Arraial		Ferradura	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	60	60,001
<b>A + C</b>	6	6	12	11,999
<b>Total</b>	46	46	72	72
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1 \times 10^{-7}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Forno-Arraial		Forte	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	24	24
<b>A + C</b>	6	6	6	5,998
<b>Total</b>	46	46	30	29,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,669 \times 10^{-7}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Forno-Arraial		Peró	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	40	40	36	36
<b>A + C</b>	6	6	8	8,002
<b>Total</b>	46	46	44	44,002
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,999 \times 10^{-7}$				
$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$				

	Peró		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	33	33
A + C	8	8,002	25	25
Total	44	44,002	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,99875 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Peró		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	42	41,999
A + C	8	8,002	18	17,999
Total	44	44,002	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,79244 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Peró		Ilha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	16	16
A + C	8	8,002	4	4
Total	44	44,002	20	20

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,99875 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Peró		Forno-Búzios	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	44	44
A + C	8	8,002	12	12,002
Total	44	44,002	56	56,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,33153 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Peró		Ferradura	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	60	60,001
A + C	8	8,002	12	11,999
Total	44	44,002	72	72

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,9988 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Peró		Forte	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	36	36	24	24
A + C	8	8,002	6	5,998
Total	44	44,002	30	29,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,6676 \times 10^{-6}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forte		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	24	24	33	33
A + C	6	5,998	25	25
Total	30	29,998	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,67 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forte		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	24	24	42	41,999
A + C	6	5,998	18	17,999
Total	30	29,998	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,46 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$



	Forte		Ilha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	24	24	16	16
<b>A + C</b>	6	5,998	4	4
<b>Total</b>	30	29,998	20	20

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,67 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forte		Forno-Búzios	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	24	24	44	44
<b>A + C</b>	6	5,998	12	12,002
<b>Total</b>	30	29,998	56	56,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1 \times 10^{-6}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forte		Ferradura	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	24	24	60	60,001
<b>A + C</b>	6	5,998	12	11,999
<b>Total</b>	30	29,998	72	72

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,67 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ferradura		Praia	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	60	60,001	33	33
<b>A + C</b>	12	11,999	25	25
<b>Total</b>	72	72	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ferradura		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	60	60,001	42	41,999
<b>A + C</b>	12	11,999	18	17,999
<b>Total</b>	72	72	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,79 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ferradura		Ilha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	60	60,001	16	26
<b>A + C</b>	12	11,999	4	4
<b>Total</b>	72	72	20	20

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ferradura		Forno-Búzios	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	60	60,001	44	44
<b>A + C</b>	12	11,999	12	12,002
<b>Total</b>	72	72	56	56,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forno-Búzios		Praia	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
<b>B</b>	44	44	33	33
<b>A + C</b>	12	12,002	25	25
<b>Total</b>	56	56,002	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,33 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forno-Búzios		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	44	44	42	41,999
A + C	12	12,002	18	17,999
Total	56	56,002	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,13 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Forno-Búzios		Ilha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	44	44	33	33
A + C	12	12,002	25	25
Total	56	56,002	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,33 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ilha		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	33	33	33	33
A + C	25	25	25	25
Total	58	58	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Ilha		Itaipu	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	33	33	42	41,999
A + C	25	25	18	17,999
Total	58	58	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,93687 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

	Itaipu		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
B	42	41,999	33	33
A + C	18	17,999	25	25
Total	60	59,998	58	58

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,94 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

## 2) Locus $\alpha$ -Est-3:

	Praia Vermelha		Ferradura	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	45	46
B	47	47	29	28
Total	74	74	74	74

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

	Praia Vermelha		Prainha	
Alelos	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	48	48
B	47	47	42	42
Total	74	74	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	49	49,001
B	47	47	33	33,001
<b>Total</b>	74	74	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,07 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	22	21,999
B	47	47	38	37,999
<b>Total</b>	74	74	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,18 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	42	42
B	47	47	58	58
<b>Total</b>	74	74	100	100

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	40	40,001
B	47	47	42	42,001
<b>Total</b>	74	74	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,88 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	27	27	37	36,999
B	47	47	43	42,999
<b>Total</b>	74	74	80	79,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,03 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	48	48
B	43	42,999	42	42
<b>Total</b>	80	79,998	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,02841 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	49	49,001
B	43	42,999	33	33,001
<b>Total</b>	80	79,998	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,00994 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	22	21,999
B	43	42,999	38	37,999
<b>Total</b>	80	79,998	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,22057 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	42	42
B	43	42,999	58	58
<b>Total</b>	80	79,998	100	100

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,02841 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	45	46
B	43	42,999	29	28
<b>Total</b>	80	79,998	74	74

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453466$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	30	29,999
B	43	42,999	48	47,999
<b>Total</b>	80	79,998	78	77,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,04452 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	37	36,999	40	40,001
B	43	42,999	42	42,001
<b>Total</b>	80	79,998	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,90924 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	40	40,001	48	48
B	42	42,001	42	42
<b>Total</b>	82	82,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,88083 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	40	40,001	49	49,001
B	42	42,001	33	33,001
<b>Total</b>	82	82,002	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,95182 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	40	40,001	42	42
B	42	42,001	58	58
<b>Total</b>	82	82,002	100	100

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,88083 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	40	40,001	45	46
B	42	42,001	29	28
<b>Total</b>	82	82,002	74	74

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453465$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Peró		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	40	40,001	30	29,999
B	42	42,001	48	47,999
<b>Total</b>	82	82,002	78	77,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,02977 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	30	29,999	48	48
B	48	47,999	42	42
<b>Total</b>	78	77,998	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,42 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	30	29,999	49	49,001
B	48	47,999	33	33,001
<b>Total</b>	78	77,998	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,05 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	30	29,999	22	21,999
B	48	47,999	38	37,999
<b>Total</b>	78	77,998	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,26 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	30	29,999	42	42
B	48	47,999	58	58
<b>Total</b>	78	77,998	100	100

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,42 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	30	29,999	45	46
B	48	47,999	29	28
<b>Total</b>	78	77,998	74	74

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	45	46	48	48
B	29	28	42	42
<b>Total</b>	74	74	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Ferradura		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	45	46	49	49,001
B	29	28	33	33,001
<b>Total</b>	74	74	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Ferradura		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	45	46	22	21,999
B	29	28	38	37,999
Total	74	74	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Ferradura		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	45	46	42	42
B	29	28	58	58
Total	74	74	100	100

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,057453$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	42	42	48	48
B	58	58	42	42
Total	100	100	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Búzios		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	42	42	49	49,001
B	58	58	33	33,001
Total	100	100	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,07 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	42	42	22	21,999
B	58	58	38	37,999
Total	100	100	60	59,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,18 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ilha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	22	21,999	48	48
B	38	37,999	42	42
Total	60	59,998	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 7,18 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ilha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	22	21,999	49	49,001
B	38	37,999	33	33,001
Total	60	59,998	82	82,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,22 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Itaipu		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	49	49,001	48	48
B	33	33,001	42	42
Total	82	82,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,07 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

3) *Locus Mdh:*

Alelos	Praia Vermelha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	56	55,999
B	8	8,001	34	34,001
<b>Total</b>	82	82,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,86 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	91	88,999
B	8	8,001	33	34,999
<b>Total</b>	82	82,002	124	123,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	28	28
B	8	8,001	8	8
<b>Total</b>	82	82,002	36	36

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,38 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	58	58
B	8	8,001	8	8
<b>Total</b>	82	82,002	66	66

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,38 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	77	77,001
B	8	8,001	9	9,001
<b>Total</b>	82	82,002	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,63 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	72	72,001
B	8	8,001	14	14,001
<b>Total</b>	82	82,002	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,24 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	56	56
B	8	8,001	12	12
<b>Total</b>	82	82,002	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,38 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	74	74,001	56	55,999
B	8	8,001	34	34,001
Total	82	82,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,19 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	56	55,999
B	34	34,001	34	34,001
Total	90	90	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,99 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	91	88,999
B	34	34,001	33	34,999
Total	90	90	124	123,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	28	28
B	34	34,001	8	8
Total	90	90	36	36

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,52 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	58	58
B	34	34,001	8	8
Total	90	90	66	66

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,52 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	77	77,001
B	34	34,001	9	9,001
Total	90	90	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,76 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	72	72,001
B	34	34,001	14	14,001
Total	90	90	86	86,001

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,37 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	55,999	56	56
B	34	34,001	12	12
Total	90	90	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,52 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$



Alelos	Peró		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	56	55,999
B	12	12	34	34,001
<b>Total</b>	68	68	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,37 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	91	88,999
B	12	12	33	34,999
<b>Total</b>	68	68	124	123,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Peró		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	28	28
B	12	12	8	8
<b>Total</b>	68	68	36	36

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	58	58
B	12	12	8	8
<b>Total</b>	68	68	66	66

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	77	77,001
B	12	12	9	9,001
<b>Total</b>	68	68	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,24 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	56	56	72	72,001
B	12	12	14	14,001
<b>Total</b>	68	68	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,53 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	72	72,001	56	55,999
B	14	14,001	34	34,001
<b>Total</b>	86	86,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,33 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	72	72,001	91	88,999
B	14	14,001	33	34,999
<b>Total</b>	86	86,002	124	123,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Forte		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	72	72,001	28	28
B	14	14,001	8	8
<b>Total</b>	86	86,002	36	36

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,53 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	72	72,001	58	58
B	14	14,001	8	8
<b>Total</b>	86	86,002	66	66

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,53 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	72	72,001	77	77,001
B	14	14,001	9	9,001
<b>Total</b>	86	86,002	86	86,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,09 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	77	77,001	56	55,999
B	9	9,001	34	34,001
<b>Total</b>	86	86,002	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,71 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	77	77,001	91	88,999
B	9	9,001	33	34,999
<b>Total</b>	86	86,002	124	123,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Ferradura		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	77	77,001	28	28
B	9	9,001	8	8
<b>Total</b>	86	86,002	36	36

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,24 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	77	77,001	58	58
B	9	9,001	8	8
<b>Total</b>	86	86,002	66	66

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,24 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	58	58	56	55,999
B	8	8	34	34,001
<b>Total</b>	66	66	90	90

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,73 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	58	58	91	88,999
B	8	8	33	34,999
Total	66	66	124	123,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      0,5 < p < 0,9				

Alelos	Forno-Búzios		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	58	58	28	28
B	8	8	8	8
Total	66	66	36	36
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,995				

Alelos	Itaipu		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	91	88,999	56	55,999
B	33	34,999	34	34,001
Total	124	123,998	90	90
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,159164$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      0,5 < p < 0,9				

4) Locus Pep:

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	100	99	97	97
B	4	5	5	5
Total	104	104	102	102
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,21010101$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      0,5 < p < 0,9				

5) Locus Pgi:

Alelos	Praia Vermelha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	32	32
B	19	20,001	16	16
Total	48	48,002	48	48
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      0,5 < p < 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	80	80
B	19	20,001	28	27,998
Total	48	48,002	108	107,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      0,5 < p < 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	33	32,999
B	19	20,001	15	14,999
Total	48	48,002	48	47,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	43	43,001
B	19	20,001	11	11,001
Total	48	48,002	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad P > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	41	41
B	19	20,001	23	22,998
Total	48	48,002	64	63,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	13	13
B	19	20,001	15	15
Total	48	48,002	28	28

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	25	25
B	19	20,001	9	9
Total	48	48,002	34	34

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	28,001	29	29
B	19	20,001	9	9
Total	48	48,002	38	38

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0,085739$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad 0,5 < p < 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	32	32
B	9	9	16	16
Total	38	38	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	32	32
B	9	9	16	16
Total	38	38	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,43 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	33	32,999
B	9	9	15	14,999
Total	38	38	48	47,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,7 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	43	43,001
B	9	9	11	11,001
Total	38	38	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,14 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	41	41
B	9	9	23	22,998
Total	38	38	64	63,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,74 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	13	13
B	9	9	15	15
Total	38	38	28	28

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	29	29	25	25
B	9	9	9	9
Total	38	38	34	34

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	32	32
B	9	9	16	16
Total	34	34	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	80	80
B	9	9	28	27,998
Total	34	34	108	107,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,43 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	33	32,999
B	9	9	15	14,999
Total	34	34	48	47,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,7 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	43	43,001
B	9	9	11	11,001
<b>Total</b>	34	34	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,14 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	41	41
B	9	9	23	22,998
<b>Total</b>	34	34	64	63,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,74 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Forte	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	25	25	13	13
B	9	9	15	15
<b>Total</b>	34	34	28	28

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forte		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	13	13	32	32
B	15	15	16	16
<b>Total</b>	28	28	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forte		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	13	13	80	80
B	15	15	28	27,998
<b>Total</b>	28	28	108	107,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,43 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	13	13	33	32,999
B	15	15	15	14,999
<b>Total</b>	28	28	48	47,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,7 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	13	13	43	43,001
B	15	15	11	11,001
<b>Total</b>	28	28	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,14 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forte		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	13	13	41	41
B	15	15	23	22,998
<b>Total</b>	28	28	64	63,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,74 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	41	41	32	32
B	23	22,998	16	16
<b>Total</b>	64	63,998	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,74 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	41	41	80	80
B	23	22,998	28	27,998
<b>Total</b>	64	63,998	108	107,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,17 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	41	41	33	32,999
B	23	22,998	15	14,999
<b>Total</b>	64	63,998	48	47,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,71 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	41	41	43	43,001
B	23	22,998	11	11,001
<b>Total</b>	64	63,998	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,88 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	43	43,001	32	32
B	11	11,001	16	16
<b>Total</b>	54	54,002	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,14 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	43	43,001	80	80
B	11	11,001	28	27,998
<b>Total</b>	54	54,002	108	107,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,57 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	43	43,001	43	43,001
B	11	11,001	11	11,001
<b>Total</b>	54	54,002	54	54,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,28 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ilha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	43	43,001	32	32
B	11	11,001	16	16
<b>Total</b>	54	54,002	48	48

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 9,7 \times 10^{-8}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ilha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	43	43,001	80	80
B	11	11,001	28	27,998
<b>Total</b>	54	54,002	108	107,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,4 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Itaipu		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	80	80	32	32
B	28	27,998	16	16
<b>Total</b>	108	107,998	48	48
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,43 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

6) Locus Pgm:

Alelos	Praia Vermelha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	1	1	21	20,999
B	11	11	3	2,99
<b>Total</b>	12	12	24	23,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,81 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	1	1	7	7
B	11	11	21	21
<b>Total</b>	12	12	28	28
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	1	1	8	8,001
B	11	11	12	12,001
<b>Total</b>	12	12	20	20,002
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,08 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	1	1	3	2,99
B	11	11	15	14,99
<b>Total</b>	12	12	18	17,989
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,35 \times 10^{-5}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	1	1	3	2,999
B	11	11	2	6,999
<b>Total</b>	12	12	10	9,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,76 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				



Alelos	Forno-Arraial		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	21	20,999
B	2	6,999	3	2,99
<b>Total</b>	10	9,998	24	23,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,57 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	7	7
B	2	6,999	21	21
<b>Total</b>	10	9,998	28	28

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4,76 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	8	8,001
B	2	6,999	12	12,001
<b>Total</b>	10	9,998	20	20,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,85 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	3	2,999
B	2	6,999	15	14,999
<b>Total</b>	10	9,998	18	17,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 8,76 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	21	20,999
B	15	14,999	3	2,99
<b>Total</b>	18	17,998	24	23,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	7	7
B	15	14,999	21	21
<b>Total</b>	18	17,998	28	28

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 4 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	3	2,999	8	8,001
B	15	14,999	12	12,001
<b>Total</b>	18	17,998	20	20,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,08 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	8	8,001	21	20,999
B	12	12,001	3	2,99
<b>Total</b>	20	20,002	24	23,998

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,89 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ferradura		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	8	8,001	7	7
B	12	12,001	21	21
<b>Total</b>	20	20,002	28	28
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 2,08 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Itaipu		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	7	7	21	20,999
B	21	21	3	2,99
<b>Total</b>	28	28	24	23,998
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 3,81 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

7) Locus Xod:

Alelos	Praia Vermelha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	60	60
B	2	2,001	8	8
<b>Total</b>	16	16,002	68	68
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	51	51
B	2	2,001	13	13
<b>Total</b>	16	16,002	64	64
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	6	6
B	2	2,001	2	2
<b>Total</b>	16	16,002	8	8
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	24	24,001
B	2	2,001	12	12,001
<b>Total</b>	16	16,002	36	36,002
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 6,96 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	47	47
B	2	2,001	3	3
<b>Total</b>	16	16,002	50	50
$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$				
gl = n(n-1)/2 = 1                      p > 0,9				

Alelos	Praia Vermelha		Peró	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	23	23
B	2	2,001	3	3
<b>Total</b>	16	16,002	26	26

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Praia Vermelha		Forno-Arraial	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	14	14,001	15	15
B	2	2,001	9	9
<b>Total</b>	16	16,002	24	24

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 5,71 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	15	15	60	60
B	9	9	8	8
<b>Total</b>	24	24	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	15	15	51	51
B	9	9	13	13
<b>Total</b>	24	24	64	64

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	15	15	6	6
B	9	9	2	2
<b>Total</b>	24	24	8	8

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Forno-Arraial		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	15	15	24	24,001
B	9	9	12	12,001
<b>Total</b>	24	24	36	36,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Arraial		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	15	15	47	47
B	9	9	3	3
<b>Total</b>	24	24	50	50

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	23	23	60	60
B	3	3	8	8
<b>Total</b>	26	26	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	23	23	51	51
B	3	3	13	13
Total	26	26	64	64

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	23	23	6	6
B	3	3	2	2
Total	26	26	8	8

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Peró		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	23	23	24	24,001
B	3	3	12	12,001
Total	26	26	36	36,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Peró		Ferradura	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	23	23	47	47
B	3	3	3	3
Total	26	26	50	50

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ferradura		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	47	47	60	60
B	3	3	8	8
Total	50	50	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ferradura		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	47	47	51	51
B	3	3	13	13
Total	50	50	64	64

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ferradura		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	47	47	6	6
B	3	3	2	2
Total	50	50	8	8

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ferradura		Forno-Búzios	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	47	47	24	24,001
B	3	3	12	12,001
Total	50	50	36	36,002

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	24	24,001	60	60
B	12	12,001	8	8
<b>Total</b>	36	36,002	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	24	24,001	51	51
B	12	12,001	13	13
<b>Total</b>	36	36,002	64	64

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Forno-Búzios		Ilha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	24	24,001	6	6
B	12	12,001	2	2
<b>Total</b>	36	36,002	8	8

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 1,25 \times 10^{-7}$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,9$$

Alelos	Ilha		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	6	6	60	60
B	2	2	8	8
<b>Total</b>	8	8	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Ilha		Itaipu	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	6	6	51	51
B	2	2	13	13
<b>Total</b>	8	8	64	64

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

Alelos	Itaipu		Prainha	
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
A	51	51	60	60
B	13	13	8	8
<b>Total</b>	64	64	68	68

$$X^2 = \sum [(o - e)^2 / e] = 0$$

$$gl = n(n-1)/2 = 1 \quad p > 0,995$$

**Apêndice C:** Resultados de equilíbrio de ligação.

POP	LOCUS#1	LOCUS#2	P-VALUE	S.E.
ITA138	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	EST-3	0.54248	0.00681
ITA138	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	MDH	0.95870	0.00242
ITA138	EST-3	MDH	0.06514	0.00327
ITA138	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	MDH	SOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE	
ITA138	MDH	PEP	NOT POSSIBLE	
ITA138	SOD	PEP	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	PGI	0.40167	0.00564
ITA138	EST-3	PGI	0.63654	0.00665
ITA138	MDH	PGI	0.89411	0.00864
ITA138	SOD	PGI	NOT POSSIBLE	
ITA138	PEP	PGI	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	PGM	1.00000	0.00000
ITA138	EST-3	PGM	1.00000	0.00000
ITA138	MDH	PGM	1.00000	0.00000
ITA138	SOD	PGM	NOT POSSIBLE	
ITA138	PEP	PGM	NOT POSSIBLE	
ITA138	PGI	PGM	1.00000	0.00000
ITA138	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	EST-2	XOD	1.00000	0.00000
ITA138	EST-3	XOD	1.00000	0.00000

ITA138	MDH	XOD	0.41808	0.00199
ITA138	SOD	XOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	PEP	XOD	NOT POSSIBLE	
ITA138	PGI	XOD	0.14715	0.00462
ITA138	PGM	XOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	EST-3	0.97954	0.00173
PRA81	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	MDH	0.27867	0.01123
PRA81	EST-3	MDH	0.62803	0.00635
PRA81	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	MDH	SOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	PEP	0.37674	0.01051
PRA81	EST-3	PEP	0.36902	0.00459
PRA81	MDH	PEP	0.17982	0.00838
PRA81	SOD	PEP	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	PGI	1.00000	0.00000
PRA81	EST-3	PGI	1.00000	0.00000
PRA81	MDH	PGI	0.83240	0.00468
PRA81	SOD	PGI	NOT POSSIBLE	
PRA81	PEP	PGI	0.20553	0.00493
PRA81	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-2	PGM	0.39503	0.00504
PRA81	EST-3	PGM	0.33687	0.00391
PRA81	MDH	PGM	0.12416	0.00301
PRA81	SOD	PGM	NOT POSSIBLE	
PRA81	PEP	PGM	0.02676	0.00214
PRA81	PGI	PGM	NOT POSSIBLE	
PRA81	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE	

PRA81	EST-2	XOD	0.09725	0.00291
PRA81	EST-3	XOD	0.47987	0.00324
PRA81	MDH	XOD	0.36041	0.01051
PRA81	SOD	XOD	NOT POSSIBLE	
PRA81	PEP	XOD	1.00000	0.00000
PRA81	PGI	XOD	0.45302	0.00456
PRA81	PGM	XOD	1.00000	0.00000
FER76	EST-1	EST-2	1.00000	0.00000
FER76	EST-1	EST-3	1.00000	0.00000
FER76	EST-2	EST-3	0.56928	0.00565
FER76	EST-1	MDH	1.00000	0.00000
FER76	EST-2	MDH	0.11027	0.00495
FER76	EST-3	MDH	1.00000	0.00000
FER76	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE	
FER76	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE	
FER76	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE	
FER76	MDH	SOD	NOT POSSIBLE	
FER76	EST-1	PEP	1.00000	0.00000
FER76	EST-2	PEP	0.13237	0.00523
FER76	EST-3	PEP	0.61717	0.00284
FER76	MDH	PEP	0.06283	0.00186
FER76	SOD	PEP	NOT POSSIBLE	
FER76	EST-1	PGI	0.62044	0.00460
FER76	EST-2	PGI	0.58026	0.01084
FER76	EST-3	PGI	0.82840	0.00500
FER76	MDH	PGI	0.93738	0.00413
FER76	SOD	PGI	NOT POSSIBLE	
FER76	PEP	PGI	1.00000	0.00000
FER76	EST-1	PGM	1.00000	0.00000
FER76	EST-2	PGM	0.28884	0.00480
FER76	EST-3	PGM	0.80104	0.00409
FER76	MDH	PGM	0.42795	0.00269
FER76	SOD	PGM	NOT POSSIBLE	
FER76	PEP	PGM	0.46062	0.00502



FER76	PGI	PGM	0.71358	0.00425
FER76	EST-1	XOD	1.00000	0.00000
FER76	EST-2	XOD	0.29444	0.00364
FER76	EST-3	XOD	1.00000	0.00000
FER76	MDH	XOD	1.00000	0.00000
FER76	SOD	XOD	NOT POSSIBLE	
FER76	PEP	XOD	1.00000	0.00000
FER76	PGI	XOD	1.00000	0.00000
FER76	PGM	XOD	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	EST-3	0.38341	0.00500
FBZ105	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	MDH	0.11430	0.00450
FBZ105	EST-3	MDH	1.00000	0.00000
FBZ105	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE	
FBZ105	MDH	SOD	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE	
FBZ105	MDH	PEP	NOT POSSIBLE	
FBZ105	SOD	PEP	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	PGI	0.43253	0.00545
FBZ105	EST-3	PGI	0.16606	0.00283
FBZ105	MDH	PGI	0.20093	0.00396
FBZ105	SOD	PGI	NOT POSSIBLE	
FBZ105	PEP	PGI	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-2	PGM	NOT POSSIBLE	
FBZ105	EST-3	PGM	NOT POSSIBLE	
FBZ105	MDH	PGM	NOT POSSIBLE	

FBZ105	SOD	PGM	NOT POSSIBLE
FBZ105	PEP	PGM	NOT POSSIBLE
FBZ105	PGI	PGM	NOT POSSIBLE
FBZ105	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE
FBZ105	EST-2	XOD	1.00000 0.00000
FBZ105	EST-3	XOD	0.39635 0.00304
FBZ105	MDH	XOD	NOT POSSIBLE
FBZ105	SOD	XOD	NOT POSSIBLE
FBZ105	PEP	XOD	NOT POSSIBLE
FBZ105	PGI	XOD	0.39025 0.00548
FBZ105	PGM	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	EST-3	0.71926 0.00447
FAR204	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	MDH	1.00000 0.00000
FAR204	EST-3	MDH	1.00000 0.00000
FAR204	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE
FAR204	MDH	SOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE
FAR204	MDH	PEP	NOT POSSIBLE
FAR204	SOD	PEP	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	PGI	0.33322 0.00199
FAR204	EST-3	PGI	0.06940 0.00292
FAR204	MDH	PGI	NOT POSSIBLE
FAR204	SOD	PGI	NOT POSSIBLE
FAR204	PEP	PGI	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	PGM	NOT POSSIBLE

FAR204	EST-3	PGM	NOT POSSIBLE
FAR204	MDH	PGM	0.24991 0.00209
FAR204	SOD	PGM	NOT POSSIBLE
FAR204	PEP	PGM	NOT POSSIBLE
FAR204	PGI	PGM	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-2	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	EST-3	XOD	NO INFORMATION
FAR204	MDH	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	SOD	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	PEP	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	PGI	XOD	NOT POSSIBLE
FAR204	PGM	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	EST-3	1.00000 0.00000
ILH77	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	MDH	0.19944 0.00252
ILH77	EST-3	MDH	0.26895 0.00553
ILH77	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE
ILH77	MDH	SOD	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE
ILH77	MDH	PEP	NOT POSSIBLE
ILH77	SOD	PEP	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	PGI	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-3	PGI	0.71175 0.00446
ILH77	MDH	PGI	0.33342 0.00398
ILH77	SOD	PGI	NOT POSSIBLE
ILH77	PEP	PGI	NOT POSSIBLE

ILH77	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-3	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	MDH	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	SOD	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	PEP	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	PGI	PGM	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	EST-2	XOD	1.00000 0.00000
ILH77	EST-3	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	MDH	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	SOD	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	PEP	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	PGI	XOD	NOT POSSIBLE
ILH77	PGM	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	EST-3	0.70681 0.00318
PRV106	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	MDH	1.00000 0.00000
PRV106	EST-3	MDH	1.00000 0.00000
PRV106	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE
PRV106	MDH	SOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE
PRV106	MDH	PEP	NOT POSSIBLE
PRV106	SOD	PEP	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	PGI	1.00000 0.00000
PRV106	EST-3	PGI	1.00000 0.00000
PRV106	MDH	PGI	0.44492 0.00485

PRV106	SOD	PGI	NOT POSSIBLE
PRV106	PEP	PGI	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	PGM	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-3	PGM	1.00000 0.00000
PRV106	MDH	PGM	NOT POSSIBLE
PRV106	SOD	PGM	NOT POSSIBLE
PRV106	PEP	PGM	NOT POSSIBLE
PRV106	PGI	PGM	0.50084 0.00397
PRV106	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-2	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	EST-3	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	MDH	XOD	0.46484 0.00179
PRV106	SOD	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	PEP	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	PGI	XOD	NOT POSSIBLE
PRV106	PGM	XOD	NOT POSSIBLE
PER114	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE
PER114	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE
PER114	EST-2	EST-3	1.00000 0.00000
PER114	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE
PER114	EST-2	MDH	0.39815 0.00166
PER114	EST-3	MDH	1.00000 0.00000
PER114	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE
PER114	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE
PER114	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE
PER114	MDH	SOD	NOT POSSIBLE
PER114	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE
PER114	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE
PER114	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE
PER114	MDH	PEP	NOT POSSIBLE
PER114	SOD	PEP	NOT POSSIBLE
PER114	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE
PER114	EST-2	PGI	NOT POSSIBLE

PER114	EST-3	PGI	0.36969	0.00492
PER114	MDH	PGI	0.79411	0.00422
PER114	SOD	PGI	NOT POSSIBLE	
PER114	PEP	PGI	NOT POSSIBLE	
PER114	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE	
PER114	EST-2	PGM	0.33473	0.00423
PER114	EST-3	PGM	1.00000	0.00000
PER114	MDH	PGM	NOT POSSIBLE	
PER114	SOD	PGM	NOT POSSIBLE	
PER114	PEP	PGM	NOT POSSIBLE	
PER114	PGI	PGM	NOT POSSIBLE	
PER114	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	EST-2	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	EST-3	XOD	1.00000	0.00000
PER114	MDH	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	SOD	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	PEP	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	PGI	XOD	NOT POSSIBLE	
PER114	PGM	XOD	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-1	EST-2	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-1	EST-3	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-2	EST-3	1.00000	0.00000
FOR104	EST-1	MDH	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-2	MDH	0.33371	0.00452
FOR104	EST-3	MDH	1.00000	0.00000
FOR104	EST-1	SOD	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-2	SOD	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-3	SOD	NOT POSSIBLE	
FOR104	MDH	SOD	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-1	PEP	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-2	PEP	NOT POSSIBLE	
FOR104	EST-3	PEP	NOT POSSIBLE	
FOR104	MDH	PEP	NOT POSSIBLE	
FOR104	SOD	PEP	NOT POSSIBLE	

FOR104	EST-1	PGI	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-2	PGI	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-3	PGI	1.00000 0.00000
FOR104	MDH	PGI	0.17604 0.00298
FOR104	SOD	PGI	NOT POSSIBLE
FOR104	PEP	PGI	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-1	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-2	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-3	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	MDH	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	SOD	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	PEP	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	PGI	PGM	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-1	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-2	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	EST-3	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	MDH	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	SOD	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	PEP	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	PGI	XOD	NOT POSSIBLE
FOR104	PGM	XOD	NOT POSSIBLE

**Apêndice D:** Cálculos dos intervalos de confiança para os Índices de estruturação de Weir & Cockerham por Jackknife.

Graus de liberdade	significância	Na tabela t
9-1 = 8	95%	2,306

<i>locus</i>	teta	t	erro padrão	erro padrão x t	média	média -	média +
						(erro padrão x t)	(erro padrão x t)
<i><math>\alpha</math>-Est-1</i>	-0,0258	2,306	0,025	0,05765	-0,049	-0,10665	0,00865
<i><math>\alpha</math>-Est-2</i>	0,0225	2,306	0,028	0,064568	0,028	-0,036568	0,092568
<i><math>\alpha</math>-Est-3</i>	0,0202	2,306	0,012	0,027672	0,02	-0,007672	0,047672
<i>Mdh</i>	0,043	2,306	0,024	0,055344	0,046	-0,009344	0,101344
<i>Pep</i>	0,0346	2,306	0,007	0,016142	0,029	0,012858	0,045142
<i>Pgi</i>	0,0148	2,306	0,013	0,029978	0,014	-0,015978	0,043978
<i>Pgm</i>	0,3536	2,306	0,322	0,742532	0,45	-0,292532	1,192532
<i>Xod</i>	0,0613	2,306	0,037	0,085322	0,057	-0,028322	0,142322
<b>Todos</b>	0,09	2,306	0,064	0,147584	0,091	-0,056584	0,238584