

Estudo eletroforético da dinâmica de variação genética em três taxa ribeirinhos ao longo do rio Solimões, América do Sul

Robert J. Hill (1)
Ghilleen T. Prance (1)
Scott A. Mori (2)
William C. Steward (1)
Darcy Shimabukuru
João Bernardi (3)

Resumo

Ao longo de um trecho de 2.174 km do rio Solimões, partindo de Iquitos, Peru, a Manaus, Brasil, foi realizado um estudo eletroforético para determinação da quantidade de variação genética em três taxa de leguminosas (*Aeschynomene sensitiva* Sw. var. *amazonica* Rudd, Papilionoideae; *Mimosa pigra* L., Mimosoideae). A variabilidade genética foi expressa em termos de: 1) grau de polimorfismo enzimático (P'), e 2) heterozigidade populacional média (H'). Foram examinados cinco sistemas enzimáticos: leucina-aminopeptidase (LAP), glutamato-dehidrogenase (GDH), fosfoglucomutase (PGM), fosfoglucoisomerase (PGI), e fosfatase ácida (AcPH). Os taxa ribeirinhos apresentam condições excepcionais para estudos experimentais sobre biologia de população e evolução. A origem, perpetuação e dinâmica de variação gênica intra e interpopulacional são usadas como indicadores de mudança evolutiva. O fluxo gênico entre essas leguminosas entomofílicas e dispersas na água é unidirecional e linear, com fluxo regressivo mínimo por vetores de pólen. Entre as enzimas examinadas, LAP foi um monômero para todos os três taxa, com valores polimórficos baixos. AcPH, outro monômero codominante, não apresentou fração isoenzimática detectável, situação semelhante à encontrada em sistemas PGM. PGI é um sistema muito complexo controlado por diversos loci. GDH é monomórfico, com uma faixa detectável. O polimorfismo médio para os dois taxa de *Aeschynomene* é 21.3% ($P' = 0.213$), e para *Mimosa* é 24.% ($P' = 0.245$). A heterozigidade populacional média (estatística Nei H') variou entre 0.10 e 0.43 para *Aeschynomene*. Esse valor foi significativamente maior para *Mimosa*, variando entre 0.33 e 0.50. Os índices de heterozigidade e de similaridade genética, os padrões demográficos e a biologia, indicam uma estreita correlação entre a variabilidade genética e a estratégia adaptativa. As populações com alta probabilidade de extinção são mais homozigóticas do que aquelas com maior probabilidade de sobrevivência. A homozigidade é favorecida em populações que sofrem perturbações ao longo do rio Solimões.

INTRODUÇÃO

As espécies ribeirinhas formam um sistema experimental ótimo para o estudo do fluxo genético e da dinâmica da variação genética. A origem, a perpetuação e a dinâmica de variação gênica intra e inter-populacional podem ser usadas como indicadores de mudança evolutiva. Três taxa da família Leguminosae foram examinados por meio de eletroforese para estabelecimento do grau de polimorfismo enzimático e de heterozigidade populacional média. Os dados obtidos fundamentam extrapolações sobre mudanças evolutivas e estratégias adaptativas. Os taxa examinados foram: *Aeschynomene sensitiva* Sw. var. *sensitiva* (Fig. 9 e 11), *Aeschynomene sensitiva* Sw. var. *amazonica* Rudd (Fig. 6) Papilionoideae; e *Mimosa pigra* L. (Fig. 10), Mimosoideae. O fluxo genético entre essas plantas entomofílicas e dispersas nas águas do rio Solimões é unidirecional e linear, com fluxo regressivo mínimo por vetores de pólen.

O gênero *Aeschynomene* está predominantemente distribuído nas regiões tropicais do mundo (Rudd, 1955). A *Aeschynomene sensitiva* var. *sensitiva* encontra-se diferenciada nos valores colombianos de Cauca e Magdalena, e na Amazônia peruana-brasileira. A variedade típica está distribuída em *habitats* úmidos do Caribe (Fig. 1), sul do México, América Central e do Sul (Fig. 2). A *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica* é encontrada ao

(1) — New York Botanical Garden, Bronx, NY 10458 - USA.

(2) — Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Diretoria Científica, Caixa Postal 7, 45.600, Itabuna, BA - Brasil.

(3) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

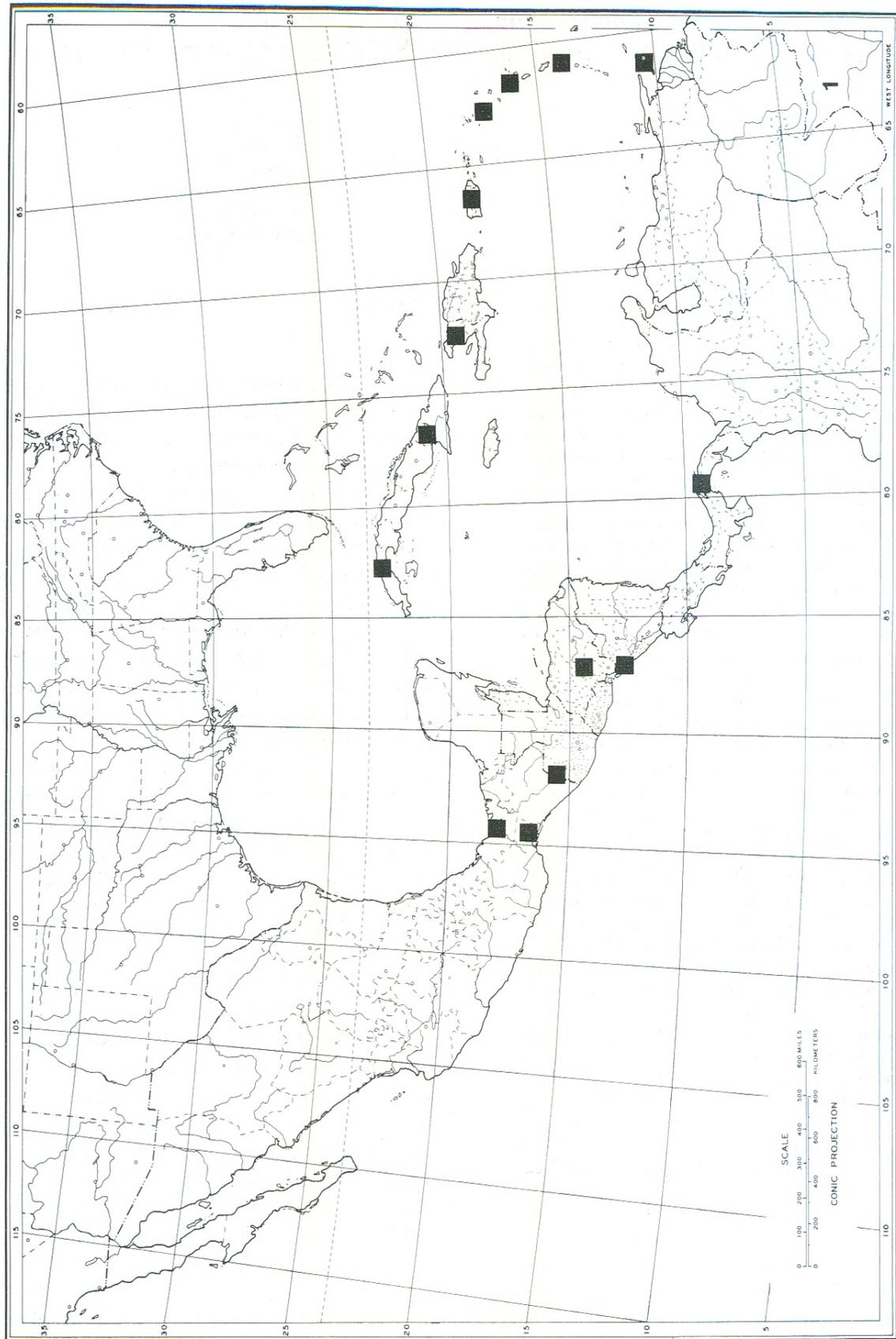


Fig. 1 — Mapa da distribuição de *Aeschynomene sensitiva* var. *sensitiva* no Caribe. Dados de Rudd (1955) e do Herbário (NY).

longo do rio Solimões (Fig. 3). Embora a herborização cause o desaparecimento de muitos traços distintivos entre os exemplares de herbário, no campo foi facilmente observado que a biologia, a história de vida e alguns caracteres fenotípicos são suficientemente diferentes para permitir pelo menos o reconhecimento das variedades. Os caracteres úteis para a distinção entre as duas variedades de *Ae. sensitiva* estão relacionados na Tabela 1. *Mimosa pigra* também é um taxon amplamente distribuído em vários habitats tropicais úmidos e de vegetação secundária, claramente distinto de todas as outras Mimosoideae da região amazônica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Vinte e seis populações de três taxa dispersos ao longo de um trecho de 2.174 quilômetros do rio Solimões, de Iquitos, Peru, a Manaus, Brasil, foram examinados por meio de eletroforese. Os dados sobre os locais, números de coleta e designações de populações encontram-se na Tabela 2. Foram examinados quatrocentos miligramas de sementes de cada cinco indivíduos de todas as populações. Existe certa preocupação a respeito da validade da técnica de amostragem. A mistura de sementes provenientes de uma única planta foi necessária pois uma semente era insuficiente para produzir resultados. O limitado tempo a bordo não permitiu a germinação das sementes e é fato conhecido que os melhores resultados são alcançados quando se usa plantas jovens. Os autores estão cientes de que a constituição genética de uma mistura de sementes de uma planta mostra todos os genes que afetam os megasporângios segregados dos pais, mais uma conglomeração de seus alelos existentes na população. Em populações homogêneas não há problemas. Nas populações heterogêneas e panmíticas os resultados são, entretanto, uma estimativa, já que está representada neles uma coleção ao acaso dos genes da população que se manifestam nos microsporângios. Quanto maiores forem a autocompatibilidade e a autofecundação de uma espécie, maior será a segurança desta técnica de amostragem. A eletroforese

foi feita por meio do Sistema Canalco, a bordo do navio Alpha Helix, do Scripps Institution of Oceanography, Fase VI - Expedição Amazônica. No laboratório Harding do New York Botanical Garden foram realizados testes de confiança sobre placas de gel para assegurar a precisão dos valores Rp. As soluções químicas utilizadas no presente estudo são as descritas por Ornstein (1964) e Davis (1964). Os procedimentos de análise foram relatados por Hill (1977). Os resultados foram fotografados e anotados para posterior análise matemática. Cinco sistemas enzimáticos foram examinados: leucina-aminopeptidase (LAP, EC 3.4.1.1)3, glutamato-dehidrogenase (GDH, EC 1.4.1.2), fosfoglucomutase (PGM, EC 2.7.5.1), fosfoglucoisomerase (PGI, EC 5.3.1.9), e fosfatase ácida (AcPH, EC 3.1.3.2). Conforme pode ser determinado através do primeiro dígito do número da Comissão Enzimática, as enzimas representam diversas classes de moléculas: oxidoreductases, transferases, hidrolases e isomerases. Todos os testes são estandardizados, previamente publicados. LAP L-leucyl-beta-naphthylamide. Sais diazonium perdem o naphthol liberado pela divisão enzimática. O teste LAP utilizado foi descrito por Gottlieb (1973a). Outra enzima hidrolética não-específica examinada foi a AcPH. Para esse sistema foi usado um substrato artificial, fosfato ácido alphanaphthyl. Os sais diazonium prendem o naphthol e formam o corante marcador (MacIntyre, 1966). O sistema químico usado para AcPH foi descrito por Gottlieb (1973a). GDH (óxido redutase), catalizando a interconversão de glutamato e cetoglutarato, é conhecido como um elo importante entre o metabolismo de aminoácido e o metabolismo de carboidrato (Dickinson e Sullivan, 1975). A metodologia usada para o teste GDH foi a descrita por Gottlieb (1973b). PGM (transferase) utiliza glucose-1-fosfato como um substrato e combina o produto, glucose-6-fosfato, a um sistema de redução de tetrazolium através de glucose-6-fosfato dehidrogenase (Hjorth, 1970; Trippa et al., 1970). PGI (isomerase) é similar a PGM, mas incorpora frutose-6-fosfato como substrato. O teste PGI foi o mesmo descrito por Gottlieb (1973b).

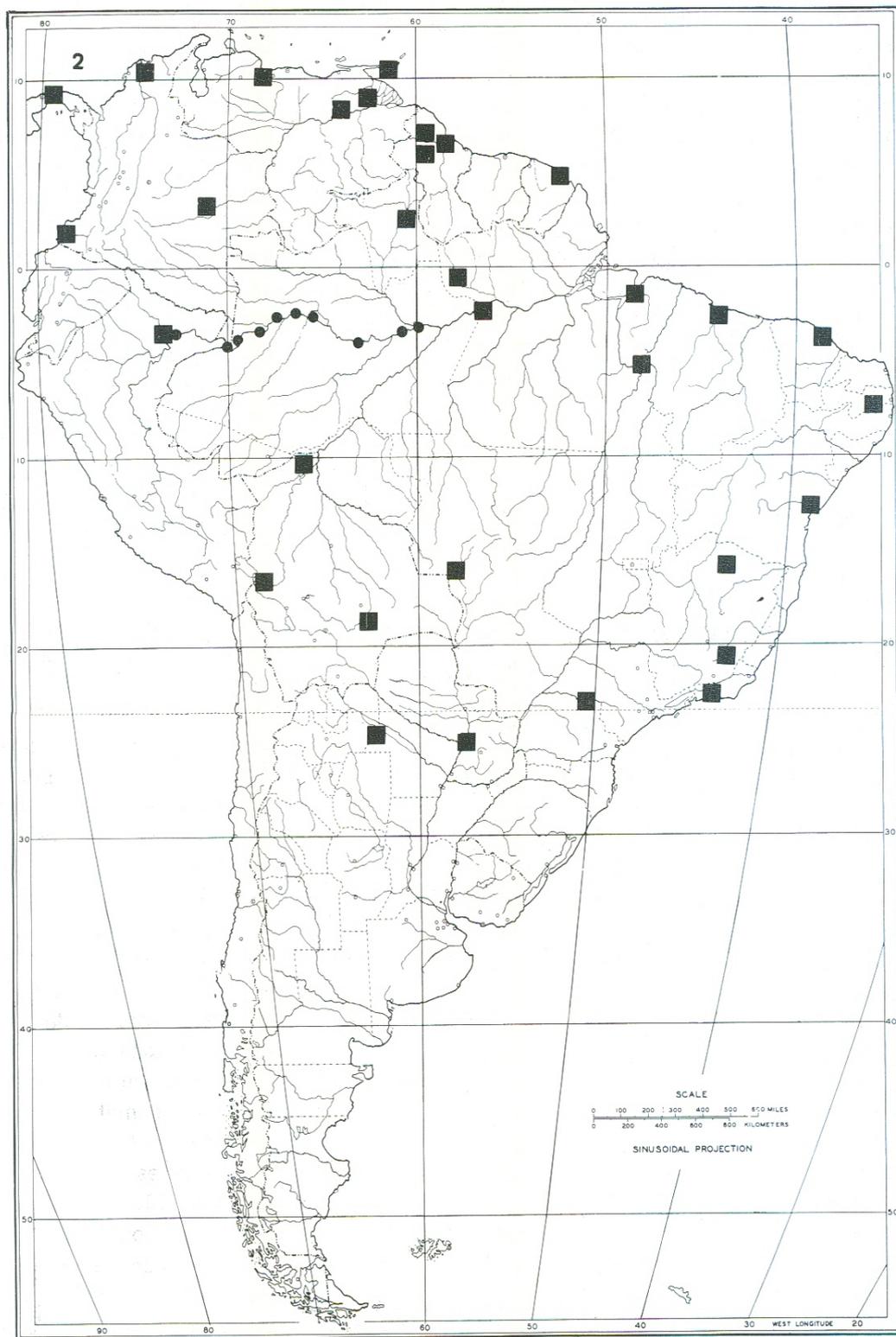


Fig. 2 — Mapa da distribuição de *Aeschynomene sensitiva* var. *sensitiva* nas Américas Central e do Sul. Os quadrinhos representam dados derivados de Rudd (1955) e do Herbário (Ny). Os círculos representam localidades ao longo do rio Solimões, utilizadas no presente trabalho (ver Tabela 1).

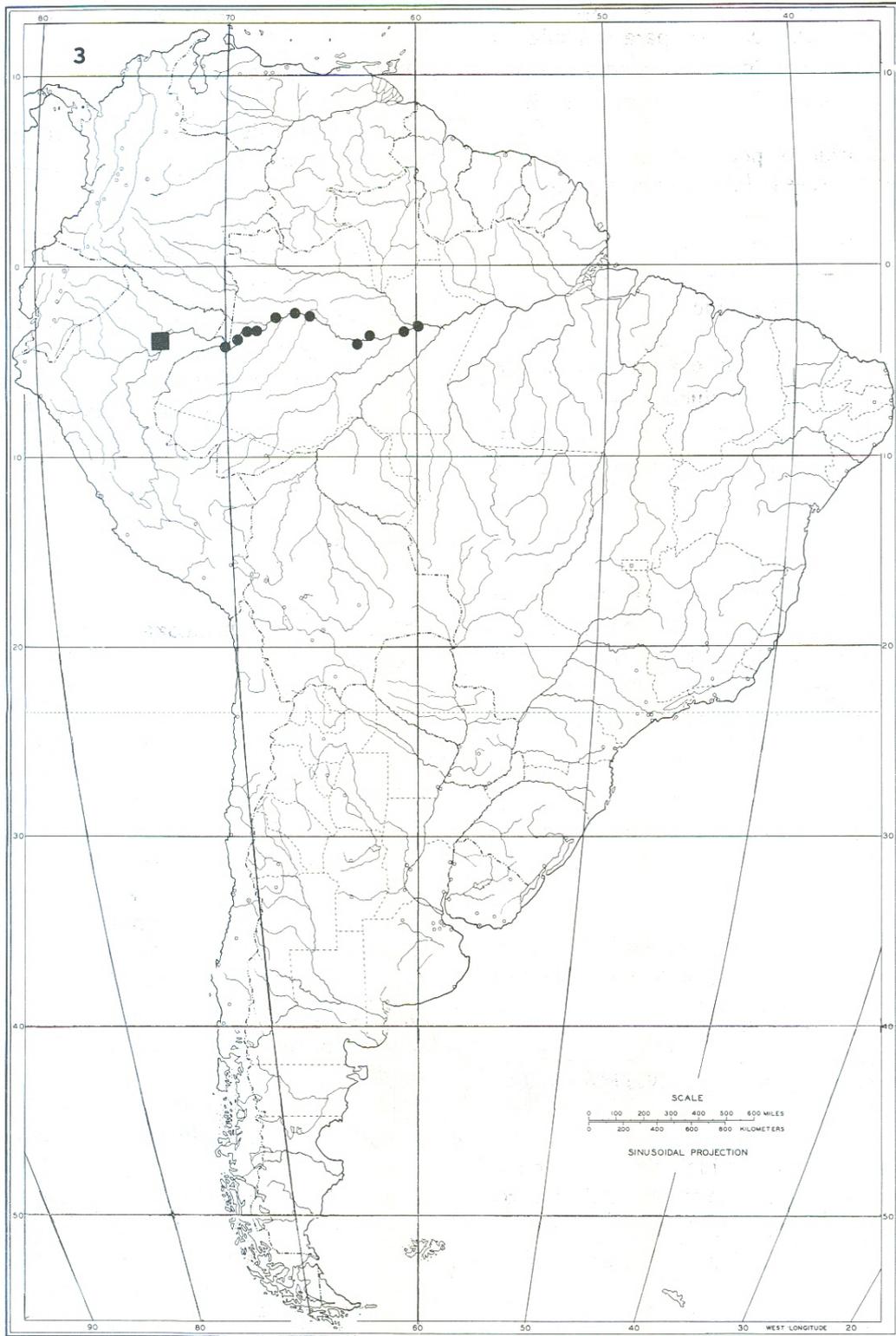


Fig. 3 — Mapa da distribuição de *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica* ao longo do rio Solimões. Os quadrinhos representam dados derivados de Rudd (1955) e do Herbário (NY). Os círculos representam as localidades utilizadas no presente trabalho (ver Tabela 1).

As freqüências gênicas foram calculadas a partir dos dados brutos (Tabela 3). Esses dados foram usados para calcular a heterozigose de um locus (Selander, 1976): $H = 1.0 - \sum x_i^2$, onde x_i é a freqüência do alelo i . A heterozigose populacional média (H') foi calculada através da seguinte equação:

$$H = \frac{\text{H médio}}{\text{número total de loci}}$$

É importante lembrar que a extrapolação a partir de pequenos conjuntos de loci para genomas é arriscada (Selander & Kaufman, 1973); entretanto, é a melhor aproximação disponível.

A identidade e a distância genética foram calculadas para cada locus através de estatísticas formuladas por Nei (1972). Se A e B são duas populações diferentes, e L é um locus determinado, a probabilidade normalizada de que os dois alelos, um de cada população, sejam idênticos é:

$$L = \frac{\sum a_i b_i}{\sqrt{\sum a_i^2 \sum b_i^2}} \quad \text{onde } a_i \text{ e } b_i \text{ são as fre-}$$

qüências do alelo i nas populações A e B. A identidade genética média de todos os loci estudados é dada pela equação:

$$I = \frac{l_{ab}}{\sqrt{l_a \cdot l_b}} \quad \text{onde } l_{ab} \text{ é a média aritmé-}$$

tica, incluindo todos os loci, de $\sum a_i b_i$; e l_a e l_b são as médias aritméticas, incluindo todos os loci, de $\sum a_i^2$ e $\sum b_i^2$, respectivamente. A distância genética é então definida como:

$$D = -\log_e I$$

Os desvios-padrões foram calculados pela equação de Zouros (1973):

$$SD = \sqrt{\frac{1.0 - I}{n}} \quad \text{onde } n \text{ é o número de loci examinados.}$$

O polimorfismo enzimático foi calculado segundo Johnson (1971):

$$P = \frac{\sum f_i x_i}{\sum x_i} \quad \text{onde, para a amostra } i, f$$

é a freqüência do alelo mais comum e x é o tamanho da amostra. O valor $(1.0 - P)$ é um índice de polimorfismo (P'). Um locus é considerado polimórfico numa população se a freqüência do eletromorfo mais comum for 0,99.

RESULTADOS

ELETROFORESE E HETEROZIGOSIDADE POPULACIONAL

O LAP para todos os três taxa foi monomérico, apresentando uma zona com um alelo rápido e um lento. Variantes isoenzimáticas foram encontrados nas populações de número 7 (*Ae. sensitiva* var. *sensitiva*), 16 (*Ae. sensitiva* var. *amazonica*) e 25 (*Mimosa pigra*). GDH foi monomórfico, apresentado somente uma densa faixa de Rp resolúvel valendo 0,068. Lee & Fairbrothers (1973) mostraram que as plântulas de *Typha* também são monomórficas. Isto pode representar uma enzima monomérica ou pode ser um artefato. Algumas enzimas tendem a se ligar mais fortemente que outras e, então, não são detectáveis sob alguns regimes eletroforéticos (Harris, *et al.*, 1974). PGM e AcPH são monômeros codominantes e não apresentam frações isoenzimáticas detectáveis. Os zimogramas revelaram duas faixas distintas em heterozigotes e uma faixa, de ambas mobilidades, em homozigotes. PGI provou ser bastante complexo e é aparentemente controlado por diversos loci. Há considerável interação genética. Em algumas populações apareceram até oito faixas (e.g. população 8),

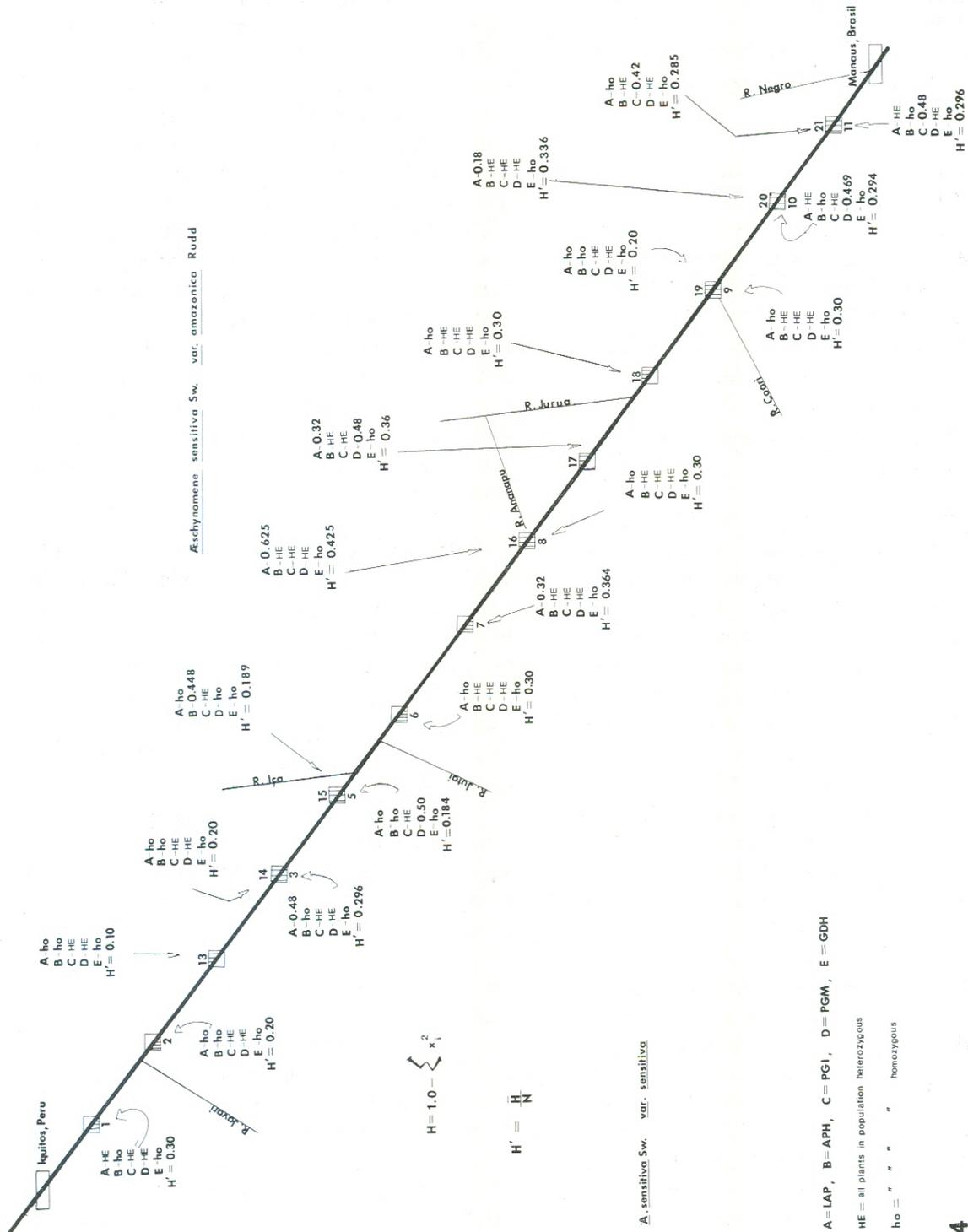


Fig. 4 — Representação diagramática do rio Solimões, de Iquitos, Peru, a Manaus, Brasil. H' é a heterozigidade populacional média. H (heterozigose de um locus) é fornecido para as populações onde há um locus que é homozigótico em alguns indivíduos. Todas as populações acima da diagonal são de *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica*, e abaixo são de *Ae. sensitiva* var. *sensitiva*.

embora o mais comum tenha sido o aparecimento de três faixas. Enquanto não forem realizados experimentos complementares de fecundação a significância do izmograma do PGI só pode ser conjecturada, e não será discutida em detalhes no presente trabalho. Uma zona de migração rápida foi decifrável e está relatada na tabela de frequência gênica (Tabela 3).

A Figura 4 é uma representação diagramática do trecho de 2.174 km do rio Solimões, de Iquitos, Peru, a Manaus, Brasil. O comprimento total do rio Solimões-Amazonas é de aproximadamente 5.500 km (Marlier, 1973). As amostragens foram tiradas antes e depois da entrada dos principais afluentes. As junções são regiões onde há possibilidade de chegada de material genético novo de cima do rio, e de perturbação das populações, devido às enchentes sazonais.

Os valores de heterozigidade média (H') para cada população são apresentados, assim como as taxas de heterozigose/homozigose para cada locus. Todas as populações acima da diagonal são de *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica*, e abaixo são de *Ae. sensitiva* var. *sensitiva*. *Mimosa pigra* não está representada no diagrama. Os valores de heterozigidade média variam de 0,184 a 0,364 para a var. *sensitiva*, 0,10 a 0,425 para a var. *amazonica*, e 0,33 a 0,50 para *Mimosa* (Tabela 4). A heterozigidade média de muitas populações de organismos é de 5 a 15% do valor de seus loci ($H' = 0,05$ a $H' = 0,15$) (Selander, 1976).

A Figura 5 é uma representação gráfica da heterozigidade média em relação à distância do rio, em quilômetros, de Iquitos a Manaus. Ao descer alguns afluentes é possível notar que a heterozigidade inicialmente decresce, com gradual acumulação (aumento na heterozigidade) de material genético. Isto é evidente para a var. *sensitiva*, nas confluências de todos os rios. A var. *amazonica* não apresenta as flutuações cíclicas que são evidentes na var. *sensitiva*. Nos rios Içá e Jutáí (tributários) não há mudança heterozigótica

detectável. Somente abaixo da boca do rio Juruá há um decréscimo na heterozigidade, com um aumento após o rio Coari.

O índice de polimorfismo varia em diferentes sistemas enzimáticos (Tabela 5). O polimorfismo médio entre todas as populações da var. *sensitiva* é 23,8%; para a var. *amazonica* é 18,8%, e para *Mimosa* é 24,5%. As populações de muitos organismos são polimórficas (para eletromorfos) em 10 a 50% de seus loci (Selander, 1976; Selander & Kaufman, 1973). Existem relativamente poucos estudos sobre diferenciação protéica (genética) entre populações de plantas estreitamente relacionadas (Gottlieb, 1976; Ayala, 1976). Entretanto, quando comparados com valores conhecidos para animais, os H' das plantas amazônicas são altos, enquanto que os P' são semelhantes. As populações de todos os três taxa são heterozigóticas, porém pobres em frações isoenzimáticas.

Os cálculos da identidade genética (I) e distância genética (\bar{D}), segundo Nei (1972), estão relacionados nas Tabelas 6 e 7. As identidades genéticas existentes dentro das e entre as combinações gênicas dos dois *Aeschynomene* foram examinadas. *Aeschynomene sensitiva* var. *sensitiva* teve valores \bar{I} variando de completa identidade, $\bar{I} = 1.00$, $\bar{D} = 0.00$ (populações de 1 a 5 e 6 a 9), a $I = 0,853 \pm 0,171$, quando a população 10 é comparada com as populações 6 e 9. Em geral as populações 6, 7 e 9 são diferenciadas (geneticamente dispares) de outras populações da var. *sensitiva*. A identidade genética média de todos os pares da var. *sensitiva* é $0,926 \pm 0,122$. *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica* é um pouco mais variável geneticamente do que a var. *sensitiva*, com a população 17 apresentando a maior quantia de diferenciação genética. As diferenças entre as populações 13 e 17 são aparentes, considerando-se o baixo valor de identidade ($\bar{I} = 0,738 \pm 0,228$). A identidade genética média de todos os pares da var. *amazonica* é $0,892 \pm 0,147$. O valor de identidade entre os conjuntos gênicos dos dois taxa é $0,902 \pm 0,140$. As diferenças na identidade entre os dois taxa não são estatística-

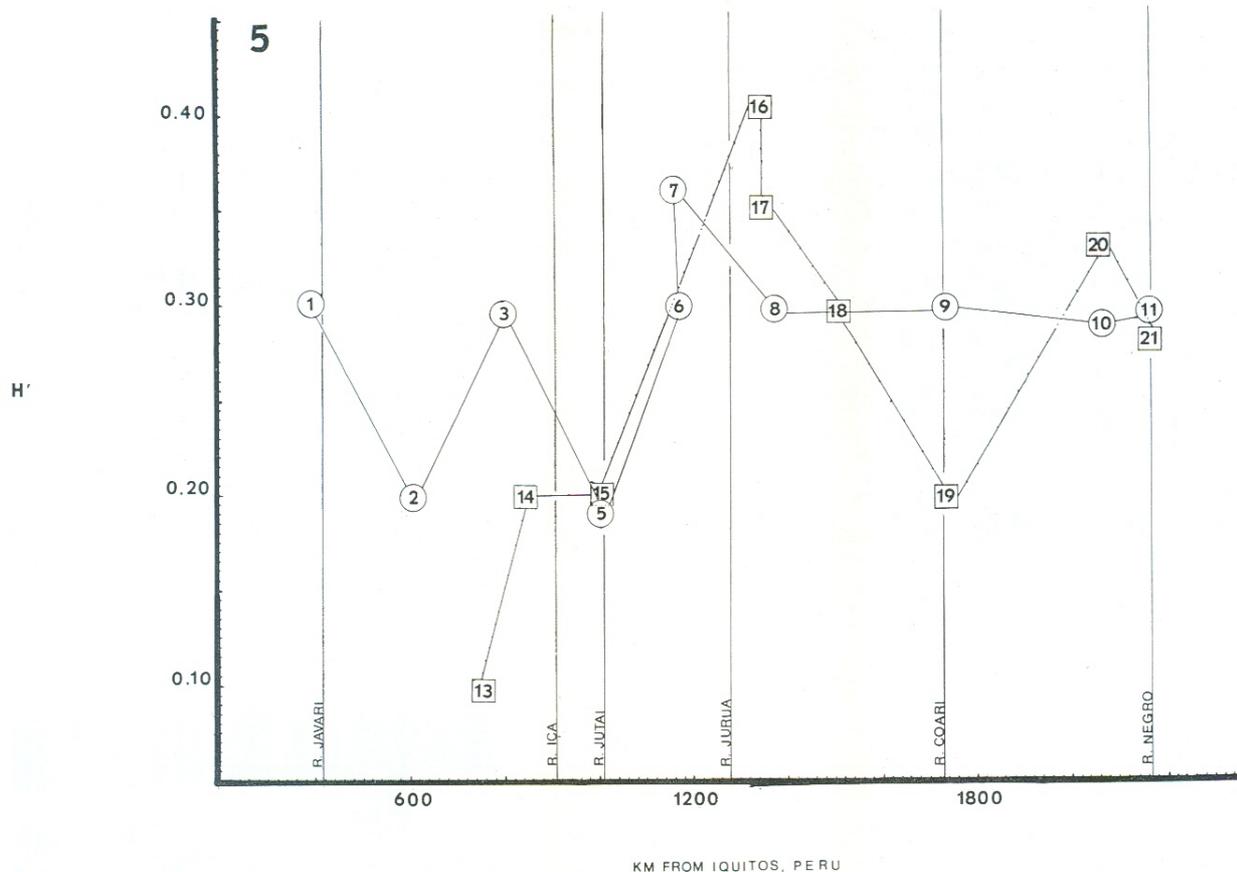


Fig. 5 — Gráfico da heterozigosidade média (H') calculada em relação à quilometragem ao longo do rio entre Iquitos, Peru, e Manaus, Brasil. Os círculos representam populações de *Aeschnomene sensitiva* var. *sensitiva* e os quadrados de *Ae. sensitiva* var. *amazonica*. Os afluentes foram assinalados de acordo com as marcas apropriadas da quilometragem ao longo do leito principal.

mente significantes; os resultados indicam que, em geral, a composição das duas combinações gênicas não diferem entre si. Os valores obtidos para *Aeschnomene* são intermediários entre os valores publicados para populações locais da mesma espécie, e para subespécies de vários organismos animais (Ayala, 1976). Carson (1976) cita exemplos críticos onde a especiação ocorreu sem alteração detectável na composição genética. A adaptação diferencial não é um pré-requisito para a especiação. Permanece a questão: Quanta diferenciação genética é suficiente para influenciar a especiação, se a evolução por seleção natural pressupõe a existência de diferenças genéticas sobre as quais as pressões seletivas atuam? O presente trabalho mos-

tra que (pelo menos nos loci examinados) os dois taxa de *Aeschnomene* apresentam valores de divergência variáveis na composição genética. Isto indica que é provável que está ocorrendo especiação ativa nessas populações ao longo do rio Solimões. O trabalho de campo também mostrou que esses dois taxa são morfologicamente distintos no habitat natural (ver diferenças na Tabela 1), e sempre foi possível colocar cada espécime dentro de um ou outro dos taxa. A diferenciação entre os dois taxa talvez mereça reconhecimento a um grau taxonômico mais elevado do que o *status* varietal que Rudd (1955) lhes atribuiu.

A Tabela 7 é a matriz dos dados sobre a identidade genética média e a distância genética média para *Mimosa pigra*. Este taxon

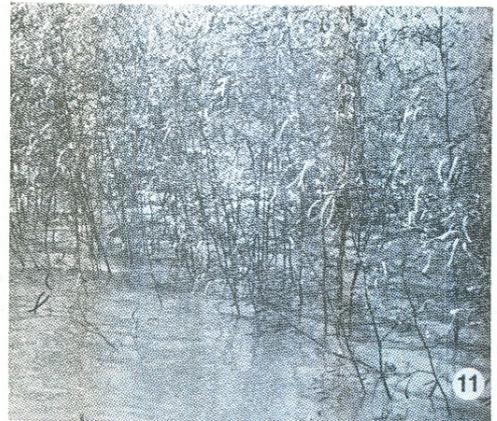
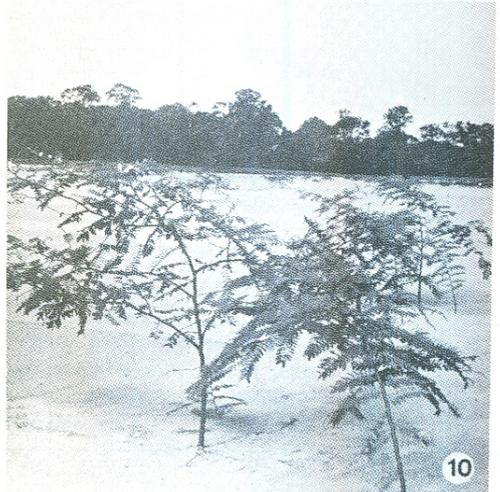
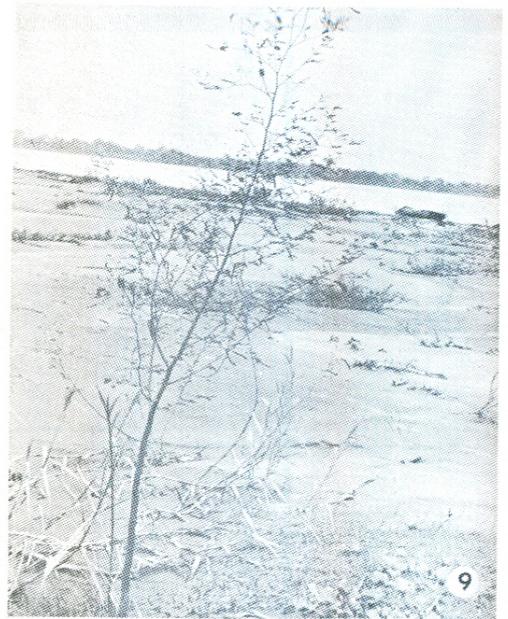


Fig. 6-11 — Fotografias de taxa e habitats ecológicos ao longo do rio Solimões. 6. *Aeschynomene sensitiva* var. *amazonica*. Sementes e lomentos de *Ae. sensitiva* var. *amazonica* sobre bancos de areia periodicamente inundados. As flechas destacam as plântulas jovens que germinaram e estão se estabelecendo. 9. *Ae. sensitiva* var. *sensitiva*. 10. *Mimosa pigra*. 11. *Ae. sensitiva* var. *amazonica* indicando inundação do banco de areia enquanto o rio sobe durante a estação chuvosa. Fotografias tiradas em fevereiro de 1977. Durante vários meses do ano as plantas ficarão completamente submersas.

apresenta valores altos entre os dois taxa, bem como esclarecer algo sobre suas divergências evolutivas. Os valores \bar{T} variam de identidade completa, entre as populações 24 e 26 ($\bar{T} = 1.00$) a $\bar{T} = 0.923$, entre as populações 22 e 25. A identidade genética média de todas as populações foi 0.969. Todos os valores comparam-se favoravelmente com os das populações locais da mesma espécie de vários organismos (Ayala, 1976).

MORFOLOGIA E ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS

Segundo Rudd (comunicação pessoal), é difícil distinguir entre os dois taxa de *Aeschynomene* com base no material de herbário, devido à plasticidade fenotípica. Entretanto, sempre nos foi possível diferenciar imediatamente os taxa no campo, através dos caracteres listados na Tabela 1. A maioria desses caracteres são diferenciais, tais como número de folíolos; se são diagnósticos, como cor ou pêlos lometares, são do tipo que se perde ou fica imperceptível após o processo de herborização. O tamanho da semente revelou-se como característica diagnóstica depois que todas as sementes de todas nossas coleções foram medidas, e o número de lomentos por folículo é quase diagnóstico.

Os dois taxa também apresentam biológicas e estratégias de sobrevivência bem diferentes ao longo do rio Amazonas. Embora aparentemente ambos ocupem o mesmo habitat, i.e., margens de rios sazonalmente inundadas, a adaptação dos dois é diferente. Através de experimentos de germinação e flutuação determinou-se que apenas 6.4% das sementes da var. *sensitiva* germinaram em 103 dias, enquanto a taxa de germinação da var. *amazonica* foi de 48% no mesmo período de tempo. Os tempos de flutuação também são significativamente diferentes entre as duas variedades. Os lomentos da var. *sensitiva* têm pêlos epidérmicos que retêm ar e os mantêm flutuando. Mesmo quando a água dos vasos experimentais foi perturbada, os lomentos da var. *sensitiva* permaneceram boiando. A germinação fica afetada somente quando a água recua e as sementes ou lomentos são atirados

ao chão (Fig. 7 e 8). A var. *amazonica* não tem pêlos epidérmicos nos lomentos. Em 32 dias de flutuação, 41% dos lomentos afundaram (ver Tabela 1). As sementes germinaram em poucos dias, sob a água, e então vieram à tona. Os cotilédones funcionam como asas aquáticas, orientando verticalmente as plântulas e colaborando na dispersão por flutuação.

Aeschynomene sensitiva var. *sensitiva* é amplamente distribuída nos Neotrópicos (ver Fig. 1 e 2). A var. *amazonica* foi encontrada apenas nos limites mais altos do rio Amazonas, no Peru (Fig. 3), na época da monografia de Rudd (1955). O presente trabalho mostra que ela encontra-se distribuída pelo menos de Iquitos a Manaus, ocorrendo esporadicamente ao longo do rio. Conseqüentemente, as duas variedades são simpátricas e exploram o mesmo habitat de maneira levemente diferente. São necessários estudos sobre sua biologia floral e compatibilidade para determinar o quanto de diferenciação já ocorreu entre os dois taxa, revelando algo sobre suas divergências evolucionárias.

TABELA 1 — Características taxonômicas úteis para distinguir as variedades de *Aeschynomene* taxa *sensitiva*

var. <i>sensitiva</i>	var. <i>amazônica</i>
caules verdes e material fresco	caules marrons em material fresco
corola amarela, sem listas vermelhas	corola amarela, com listas vermelhas
lomentos com pêlos epidérmicos	lomentos sem pêlos epidérmicos
comprimento do fruto, 3.0-5.0 cm.	comprimento do fruto, 4.5-8.5 cm.
largura do fruto, 3.0-4.0mm.	larg. do fruto, 4.0-6.0mm.
lomentos/folículo, 4-9	lomentos/folículo, (6) 12-14
comprimento de semente madura, 2.0-3.0 mm.	comprimento de semente madura, 3.5-4.5 mm.
folíolos/folha, 20-55	folíolos/folha, 10-27

DISCUSSÃO

A tentativa de correlacionar estratégias adaptativas com variabilidade genética é ariscada. Selander & Johnson (1973) enfatizam que a correlação das freqüências alelopáticas com fatores ambientais está longe de ser conveniente. Uma listagem de outros fatores que causam variabilidade em heterozigose gênica, além de adaptação, incluiria: auto-fecundação, fluxo genético, oscilação genética em pequenas populações, número de espécies (tamanho efetivo da população), variação na amplitude do nicho (correlação entre amplitude ecológica e variação genética), migração, efeito fundador, e articulação com outros loci sob a influência de seleção (Soulé, 1973; Johnson, 1976). Raramente é demonstrada uma correlação positiva entre estratégias adaptativas e variação enzimática (Koehn, 1969; Marshall & Allard, 1970; Merritt, 1972; Soulé *et al.*, 1973; Selander & Kaufman, 1973; Hamrick & Allard, 1975; e Johnson, 1976).

A Bacia Amazônica apresenta uniformidade quanto às variáveis geográfica, geológica e climatológica (Marlier, 1973). O regime de enchentes sazonais (Fig. 9, 10 e 11) do rio é o fator mais importante que afeta a adaptação dos taxa ribeirinhos. Já foi demonstrada a relação direta existente entre esse fator e o aumento da diversidade de espécies e das respostas adaptativas de peixes (Roberts, 1973). O regime de enchentes é unimodal na área de estudos, devido à predominância de tributários do sul sobre os do norte e ao efeito tampão da várzea (zona aluvial próxima ao rio, periodicamente inundada). Uma enchente de 15m. não é rara em Manaus, Brasil (Marlier, 1973). Deslizamento de terra, destruição por inundação, e depósito de sementes ou plântulas frutíferas em habitats inadequados tais como os que ficam expostos com o recuo das águas promovem uma alta taxa de extinção entre a população dos taxa ribeirinhos. As enchentes sazonais removem uma grande parte do genoma das populações dessas regiões que sofrem variações. Uma alta taxa de atrito é evidente em todas as fases da vida da planta, de semente e adulto. As populações ribeirinhas podem ser chamadas de marginais,

embora não se localizem necessariamente na periferia. Populações marginais são aqui definidas como aquelas que apresentam flutuações relativamente altas em número de indivíduos e uma probabilidade alta de extinção (Soulé, 1973). As mudanças cíclicas nos valores de heteroziguidade (H') vistos na Fig. 5 resultam do equilíbrio entre os altos coeficientes de extinção causados por restrições severas periódicas e a introdução de material genético novo pelos afluentes. O problema das condições que atrasam o progresso genético (gargalos genéticos) foi estudado matematicamente, concluindo-se que a variabilidade genética da população deve declinar rapidamente (Nei *et al.*, 1975). O ciclo de variabilidade reduzida que se observa ao descer um afluente reflete uma população marginal e fundamenta a predição de que um alto coeficiente de extinção reduz a variabilidade genética. A heteroziguidade cíclica apoia a hipótese de que as enzimas flexíveis, funcionalmente generalizadas, são vantajosas em ambientes variáveis. Proteínas euritolerantes, espécie de enzima solitária capaz de manter as propriedades "ligand-binding" sob condições ambientais diferentes, são teoricamente possíveis (Somero & Low, 1977). O aumento na heteroziguidade (na variabilidade genética) é favorecido pelo influxo de material genético novo que vem das populações existentes ao longo dos afluentes. Isto é evidente em populações próximas à entrada do rio Juruá (Fig. 5, i.e., populações 16). Este rio, apresentando o maior efeito em heteroziguidade populacional, também apresenta o maior efeito em homeostase geral de todo rio Solimões-Amazonas (Marlier, 1973). O rio Juruá enche mais do que outros afluentes porque drena uma das maiores bacias hidrográficas (217.000 km²) na área de estudo. Também apresenta zonas de inundação e sedimentação aluvial maiores do que em qualquer outro afluente da região estudada. A var. *sensitiva* responde à variação sazonal do rio e às severas restrições periódicas ao tamanho da população apresentando períodos longos de flutuação, baixas taxas de germinação e menor produção de sementes. O baixo valor de H' é um resultado das altas taxas de extinção causadas pela germinação

TABELA 2 — Dados sobre as populações de todos taxa examinados.

Designação da população	Número de coleção *	Km de Iquitos	Localidade	Data
Aeschynomene sensitiva var. sensitiva				
1	24,645	470	Quebrada Cayru, Peru	3/3/77
2	24,640	619	Belém, Igarapé Preto, Brasil	1/3/77
3	24,579	800	Porto Natal	25/2/77
4	24,562	817	Caturiapixuna	
5	24,519	1,004	Ilha Barurua	21/2/77
6	24,508	1,158	Foz de Mamoriá, So.	20/2/77
7	25,506	1,158	Foz de Mamoriá, No.	20/2/77
8	24,471	1,346	Ananapu	18/2/77
9	24,432	1,735	Rio Coari	12/2/77
10	24,388	2,065	Manacapuru	12/2/77
11	24,377	2,174	Rio Negro, Manaus	11/2/77
Aeschynomene sensitiva var. amazonica				
12	24,639	619	Belém, Igarapé Preto	1/3/77
13	24,637	753	São Paulo de Olivença	27/2/77
14	24,563	817	Caturiapixuna	25/2/77
15	24,520	1,004	Ilha Barurua	21/2/77
16	24,470	1,346	Ananapu	18/2/77
17	24,463	1,346	Ananapu	18/2/77
18	24,449	1,514	Tefé	17/2/77
19	24,427	1,735	Rio Coari	15/2/77
20	24,391	2,065	Manacapuru	12/2/77
21	24,378	2,174	Rio Negro, Manaus	11/2/77
Mimosa pigra				
22	24,662	470	Quebrada Cayru, Peru	3/3/77
23	24,643	619	Belém, Igarapé Preto, Brasil	1/3/77
24	24,588	800	Porto Natal	25/2/77
25	24,445	1,607	Lago Tarua, Montevidéo	16/2/77
26	24,430	1,735	Rio Coari	15/2/77

(*) — Todos os números de coleção são de Prance, Mori, Hill, Shimbabukuru e Bernardi. Há exemplares em NY, no INPA (o material peruano está depositado em USM), e em vários outros herbários dos Estados Unidos e Brasil.

deficiente e pelo atrito entre populações que produzem menos diásporas. A estratégia adaptativa da var. *amazonica* é a apresentação de períodos menores de flutuação, altas taxas de germinação e produção de mais sementes (refletida em valores H' mais altos). Há uma correlação entre variabilidade genética e estratégia adaptativa, segundo indicam o índice de heterozigosidade, o índice de similaridade genética, os padrões demográficos e a biologia do organismo.

O polimorfismo médio para ambos taxa de *Aeschynomene* e *Mimosa pigra* fica entre 18 e 24% (Tabela 5). Este valor é comparável

às proporções de loci polimórficos entre vertebrados "vagile" que experienciam seu ambiente como "fine-grained" (Selander & Kaufman, 1973). A mobilidade de diásporos é maior entre essas plantas dispersas na água, as quais provavelmente também experienciam o ambiente como finamente granulado.

A identidade genética média e a distância genética média indicam que ambos taxa de *Aeschynomene* são estreitamente relacionados. Esses valores são próximos daqueles obtidos a nível de subespécies por outros organismos, enquanto que *Mimosa*, apresenta valores comparáveis aos encontrados entre

TABELA 3 — Frequências gênicas (eletromórficas) em taxa de legumes (a = Homozigoto que migra com mais velocidade na corrente elétrica; b = Heterozigoto; c = Homozigoto que migra mais devagar).

População	LAP			AcPH		PGM		PGI		CDH
	a	b	c	a	b	a	b	a	b	a
1	5.0	0.5		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
2		1.0		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
3	0.4	0.6		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
5	0.5	0.5		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
6		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
7		8.2	0.2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
8	0.5	0.5		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
9		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
10	0.5	0.5		1.0		0.375	0.675	0.5	0.5	1.0
11	0.5	0.5		1.0		0.5	0.5	0.4	0.6	1.0
13		1.0		1.0			1.0	0.5	0.5	1.0
14		1.0		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
15		1.0		0.66	0.34		1.0	0.5	0.5	1.0
16	0.25	0.5	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
17	0.8	0.3		0.5	0.5	0.4	0.6	0.5	0.5	1.0
18		1.0		0.5	0.5		1.0	0.5	0.5	1.0
19		1.0		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
20		1.0		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
21	0.1	0.9		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
22	0.3	0.7				0.5	0.5			
23	0.4	0.6				0.5	0.5			
24	0.5	0.5				0.5	0.5			
25	0.4	0.4	0.2			0.4	0.6			
26	0.5	0.5				0.5	0.5			

populações locais da mesma espécie. As diferenças morfológicas encontradas no campo e as diferentes estratégias adaptativas dos dois taxa de *Aeschynomene* também sugerem a validade de um reconhecimento taxonômico mais detalhado. Deveriam ser realizados estudos complementares contexto da distribuição total e da variação de *Ae. sensitiva* e de espécies estreitamente relacionadas. É tam-

bém importante um exame de seus cromossomos, biologia floral e compatibilidade. Não propomos nenhuma mudança formal no status taxonômico desses taxa de *Aeschynomene* até que sejam realizados mais estudos, mesmo porque o propósito deste trabalho foi o de determinar a variabilidade genética ao longo de um trecho do rio e não o de fazer uma investigação taxonômica detalhada.

TABELA 4 — H' = heterozigose m-dia. $H = 1.0$
 — x_i^2 = cálculo da heterozigose de cada locus, $H = 1.0 - x_i^2$

Ae. sensitiva var. sensitiva		Ae. sensitiva var. amazonica		Mimosa pigra	
1	0.300			22	0.460
2	0.200	13	0.100	23	0.490
3	0.296	14	0.200	24	0.500
		15	0.189	25	0.373
5	0.184	16	0.425	26	0.333
6	0.300	17	0.360		
7	0.364	18	0.300		
8	0.300	19	0.200		
9	0.300	20	0.337		
10	0.294	21	0.285		

TABELA 5 — Índice de polimorfismo (P')

ENZIMA	(P')
Ae. sensitiva var. sensitiva	
LAP	0.305
GDH	0.000
PGM	0.477
AcPH	0.180
Ae. sensitiva var. amazonica	
LAP	0.077
GDH	0.000
PGM	0.337
AcPH	0.338
Mimosa pigra	
LAP	0.457
PGM	0.521

TABELA 6 — Valores de identidade genética (abaixo da diagonal) e distância genética (acima da diagonal) para 19 populações de *Aescynomene sensitiva* (var. sensitiva, populações 1-11; var. amazonica, populações 13-21).

	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1		0.067	0.003	0.000	0.154	0.140	0.077	0.154	0.007	0.003	0.126	0.067	0.175	0.098	0.109	0.221	0.067	0.154	0.139
2	0.935		0.041	0.067	0.067	0.078	0.144	0.067	0.073	0.069	0.059	0.000	0.095	0.123	0.281	0.134	0.000	0.067	0.081
3	0.997	0.959		0.003	0.124	0.116	0.079	0.124	0.009	0.006	0.100	0.041	0.147	0.093	0.132	0.191	0.041	0.124	0.116
5	1.000	0.935	0.997		0.154	1.140	0.077	0.154	0.007	0.003	0.126	0.067	0.175	0.098	0.109	0.221	0.067	0.154	0.139
6	0.857	0.935	0.883	0.857		0.011	0.077	0.000	0.159	0.157	0.126	0.067	0.073	0.056	0.215	0.067	0.067	0.000	0.015
7	0.869	0.925	0.891	0.869	0.989		0.063	0.011	0.145	0.143	0.137	0.077	0.084	0.025	0.182	0.078	0.078	0.011	0.021
8	0.926	0.866	0.923	0.926	0.926	0.939		0.077	0.082	0.079	0.203	0.144	0.150	0.021	0.032	0.144	0.144	0.077	0.063
9	0.857	0.935	0.883	0.857	1.000	0.989	0.926		0.159	0.157	0.126	0.067	0.073	0.056	0.215	0.067	0.067	0.000	0.015
10	0.994	0.929	0.991	0.994	0.853	0.865	0.921	0.853		0.009	0.090	0.073	0.135	0.103	0.105	0.178	0.073	0.159	0.145
11	0.997	0.933	0.994	0.997	0.855	0.867	0.923	0.855	0.991		0.129	0.069	0.178	0.101	0.212	0.224	0.069	0.157	0.129
13	0.882	0.943	0.905	0.882	0.882	0.872	0.816	0.882	0.914	0.879		0.059	0.026	0.181	0.304	0.059	0.059	0.126	0.140
14	0.935	1.000	0.959	0.935	0.935	0.925	0.866	0.935	0.929	0.933	0.943		0.095	0.123	0.281	0.134	0.000	0.067	0.081
15	0.839	0.909	0.863	0.839	0.929	0.919	0.861	0.929	0.874	0.837	0.974	0.909		0.129	0.251	0.006	0.095	0.073	0.088
16	0.906	0.885	0.912	0.906	0.946	0.976	0.979	0.946	0.902	0.904	0.834	0.885	0.879		0.080	0.123	0.123	0.056	0.092
17	0.896	0.755	0.876	0.896	0.807	0.834	0.968	0.807	0.901	0.894	0.738	0.755	0.778	0.923		0.245	0.281	0.215	0.245
18	0.802	0.875	0.826	0.802	0.935	0.925	0.866	0.935	0.837	0.800	0.943	0.875	0.994	0.885	0.783		0.134	0.067	0.081
19	0.935	1.000	0.959	0.935	0.935	0.925	0.866	0.935	0.929	0.933	0.943	1.000	0.909	0.885	0.755	0.875		0.067	0.081
20	0.857	0.935	0.883	0.857	1.000	0.989	0.926	1.000	0.853	0.855	0.882	0.935	0.929	0.946	0.807	0.935	0.935		0.015
21	0.869	0.922	0.890	0.869	0.986	0.979	0.939	0.986	0.865	0.879	0.869	0.922	0.916	0.912	0.837	0.922	0.922	0.986	

TABELA 7 — Valores de identidade genética (abaixo da diagonal) e distância genética (acima da diagonal) para 5 populações de *Mimosa pigra* ao longo do rio Amazonas.

População	22	23	24	25	26
22		0.009	0.038	0.079	0.038
23	0.991		0.009	0.051	0.009
24	0.962	0.990		0.041	0.000
25	0.923	0.950	0.950		0.041
26	0.962	0.990	1.000	0.959	

AGRADECIMENTOS

Pesquisa apoiada pela National Science Foundation, bolsa n.º DEB75-03724-AO2 cedida a G. T. Prance, e pelo programa Alpha Helix da Scripps Institution of Oceanography, fase VI da Expedição Amazônica 1976-77.

Os autores agradecem ao Dr. Warwick E. Kerr, Diretor do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil, e a muitos de seus funcionários, pelo apoio e assistência. Agradecemos ao Cap. Feeney, ao Sr. Dennis Pop, e à tripulação do Navio de Pesquisas Alpha Helix, Scripps Institution of Oceanography, University of California, San Diego, Caixa Postal 1529, La Jolla, CA 92093. Também agradecemos ao Dr. Dominick Basile pelo uso de seu aparelho de eletroforese e de outros equipamentos em New York e ao Dr. Eduardo Lleras pela organização de muitos dos preparativos locais em Manaus, Brasil. Expressamos nossos agradecimentos à Sra. Shirley Keel, NYBG, que auxiliou nos trabalhos de laboratório, e ao Dr. Velva Rudd, Smithsonian Institution, que fez muitos comentários e identificação úteis. O presente manuscrito foi revisado pelo Dr. Daniel J. Crawford, Ohio State University, Dr. Howard S. Irwin e Sr. Rupert Barneby, NYBG, aos quais somos agradecidos.

SUMMARY

An electrophoretic study was undertaken to determine the extent of genetic variability in three taxa of legumes (*Aeschynomene sensitiva* Sw. var. *sensitiva*, *Aeschynomene sensitiva* Sw. var. *amazonica* Rudd, Papilionoideae; *Mimosa pigra* L., Mimosoideae) along a 2,174 Km reach of the Amazon River from Iquitos, Peru, to Manaus, Brazil. Genetic variability was expressed in terms of: 1) degree of enzyme polymorphism (P'), and 2) average populational heterozygosity (H'). Five enzyme systems were examined: leucine aminopeptidase (LAP), glutamate dehydrogenase (GDH), phosphoglucosmutase (PGM), phosphoglucosomerase (PGI), and acid phosphatase (AcPH). Riverine taxa provide a unique system for the experimental study of population biology and evolution. The origin, perpetuation, and dynamics of genic variation within and among populations is used as an indicator of evolutionary change. Gene flow in these entomophilous, water dispersed legumes is unidirectional and linear, with minor backflow by pollen vectors. Of the enzymes examined, LAP was a monomer for all three taxa with low polymorphic values. AcPH, also a codominant monomer, had no detectable isoenzyme fraction; a situation also found in PGM systems. PGI is a very complex system controlled by several loci. GDH is monomorphic with one resolvable band. Mean polymorphism for the two *Aeschynomene* taxa is 21.3% (P' = 0.213), and for the *Mimosa* is 24.5% (P' = 0.245). Average populational heterozygosity (Nei statistic, H') varied between 0.10 to 0.43 for *Aeschynomene*. This value was significantly higher for the *Mimosa*, which ranged between 0.33 and 0.50. Heterozygosity index, genetic similarity index, demographic patterns, and biology show a concise correlation between genetic variability and adaptative strategy. Populations with a high extinction probability are more homozygous than populations with greater survival probability. Homozygosity is favored in perturbed populations along the Rio Amazonas.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- AYALA, F. J.
1976 — Genetic differentiation during the speciation process. *Evolutionary biology*, 8: 1-78.
- CARSON, H. L.
1976 — The unit of genetic change in adaptation and speciation. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 63: 210-223.
- DAVIS, B. J.
1964 — Disc electrophoresis. II. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 404-427.
- DICKINSON, W. J. & SULLIVAN, L. D.
1975 — *Gene-enzyme systems in Drosophilla*. New York, Springer-Verlag.
- GOTTLIEB, L. D.
1973a — Enzyme differentiation and phylogeny in *Clarkia franciscana*, *C. rubicunda*, and *C. amoena*. *Evolution*, 27: 205-214.

- 1973b — Genetic differentiation, sympatric speciation, and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*. *Amer. J. Bot.*, 60: 545-553.
- 1976 — Biochemical consequences of speciation in plants. In: Ayala, F. J. ed. — **Molecular evolution**. Sunderland, Sinauer Associates inc.
- HAMRICK, J. L. & ALLARD, R. W.
1975 — Correlations between quantitative characters and enzyme genotypes in *Avena barbata*. *Evolution*, 29: 438-442.
- HARRIS, H. M. D. A.
1974 — The incidence of rare alleles determining electrophoretic variants: data on 43 enzyme loci in man. *Ann. Hum. Genet.*, 3: 617-625.
- HILL, R. J.
1977 — Variability of soluble seed proteins in populations of *Mentzelia L.* (Loasaceae) from Wyoming and adjacent states. *Bull. Torrey Bot. Club*, 104: 93-101.
- HJORTH, J. P.
1970 — A phosphoglucumutase locus in *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 64: 146-148.
- JOHNSON, G. B.
1971 — Metabolic implications of polymorphism as an adaptive strategy. *Science*, 232: 347-349.
1976 — Enzyme polymorphism and adaptation in alpine butterflies. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 63: 248-261.
- KOEHN, R. K.
1969 — Esterase heterogeneity: dynamics of a polymorphism. *Science*, 163: 943-944.
- LEE, D. W. & FAIRBROTHERS, D. E.
1973 — Enzyme differences between adjacent hybrid and parent populations of *Typha*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 100: 3-11.
- MACINTYRE, R. J.
1966 — The genetics of an acid phosphatase in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Genetics*, 53: 461-474.
- MARLIER, G.
1973 — Limnology of the Congo and Amazon Rivers. In: Meggers, B. J.; Ayansu, E. S. & Duckworth, W. D. ed. - **Tropical forest ecosystems in Africa and South America: A comparative review**. Washington, Smithsonian Institution press.
- MARSHALL, D. R. & ALLARD, R. W.
1970 — Isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. *Heredity*, 25: 373-382.
- MERRIT, R. B.
1972 — Geographic distribution and enzyme properties of lactate dehydrogenase allozymes in the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Amer. Natur.*, 106: 173-184.
- NEI, M.
1972 — Genetic distance between populations. *Amer. Natur.*, 106: 283-92.
- NEI, M.; MARUYAMA, T. & CHAKRABORTY, R.
1975 — The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29: 1-10.
- ORNSTEIN, L.
1964 — Disc electrophoresis. I. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 321-349.
- ROBERTS, T. R.
1973 — Ecology of fishes in the Amazon and Congo Basins. In: Meggers, B. J.; Ayansu, E. S. & Duckworth, W. D. ed. - **Tropical forest ecosystems in Africa and South America: A comparative review**. Washington, Smithsonian Institution press.
- RUDD, V. E.
1955 — The America species of *Aeschynomene*. *Contrib. U.S. Nat. Herb.*, 32(1): 1-172.
- SELANDER, R. K.
1976 — Genic variation in natural populations. In: Ayala, F. J. ed. — **Molecular evolution**. Sunderland, Sinauer Associates.
- SELANDER, R. K. & JOHNSON, W. E.
1973 — Genetic variation among vertebrate species. *Ann. Rev. Ecology and System.*, 4: 75-91.
- SELANDER, R. K. & KAUFMAAN, D. W.
1973 — Genic variability and strategies of adaptation in animals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 70: 1875-1877.
- SOULE, M.
1973 — The spistasis cycle: a theory of marginal populations. *Ann. Rev. Ecology and System.*, 4: 165-187.
- SOULE, M.; YANG, S. Y.; WEILER, M. G. W. & GORMAN, G. C.
1973 — Island lizards: the genetic-phenetic variation correlation. *Nature*, 242: 191-193.
- SOMERO, G. N. & LOW, P. S.
1977 — Eurytolerant proteins: mechanisms for extending the environmental tolerance range of enzyme-ligand interactions. *Amer. Natur.*, 111: 537-538.
- TRIPPA, G.; SANTOLAMAZZA, C. & SCOZZARI, R.
1970 — Phosphoglucumutase (Pgm) locus in *Drosophila melanogaster*: linkage and population data. *Biochem. Genet.*, 4: 665-667.

(Aceito para publicação em 10/03/78)