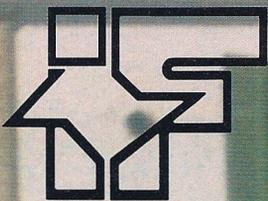




**SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE**

**COORDENADORIA DE INFORMAÇÕES TÉCNICAS, DOCUMENTAÇÃO E PESQUISA AMBIENTAL**

**INSTITUTO FLORESTAL**



# **REVISTA DO INSTITUTO FLORESTAL**

Rev. Inst. Flor.

São Paulo

v. 14

n. 2

p. 85 - 141

dez. 2002

**GOVERNADOR DO ESTADO**

Geraldo Alckmin

**SECRETÁRIO DO MEIO AMBIENTE**

José Goldemberg

**COORDENADOR DE INFORMAÇÕES TÉCNICAS, DOCUMENTAÇÃO E PESQUISA AMBIENTAL**

Luiz Mauro Barbosa

**DIRETOR GERAL**

Valdir de Cicco

**COMISSÃO EDITORIAL/EDITORIAL BOARD**

Demétrio Vasco de Toledo Filho

Cybele de Souza Machado Crestana

Edegar Giannotti

Francisco Carlos Soriano Arcova

Márcia Balistiero Figliolia

Sandra Monteiro Borges Florsheim

Yara Cristina Marcondes

Maria Isabel Vallilo

Reinaldo Cardinali Romanelli

Waldir Joel de Andrade

Ivan Suarez da Mota

Marilda Rapp de Eston

**PUBLICAÇÃO SEMESTRAL/SEMESTRAL PUBLICATION**

**SOLICITA-SE PERMUTA**

**EXCHANGE DESIRED**

**ON DEMANDE L'ÉCHANGE**

Biblioteca do

Instituto Florestal

Caixa Postal 1.322

01059-970 São Paulo, SP

Brasil

Fone: (011) 6231-8555

Fax: (011) 6232-5767

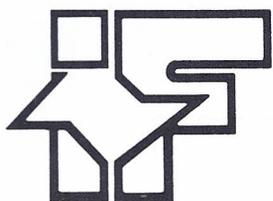
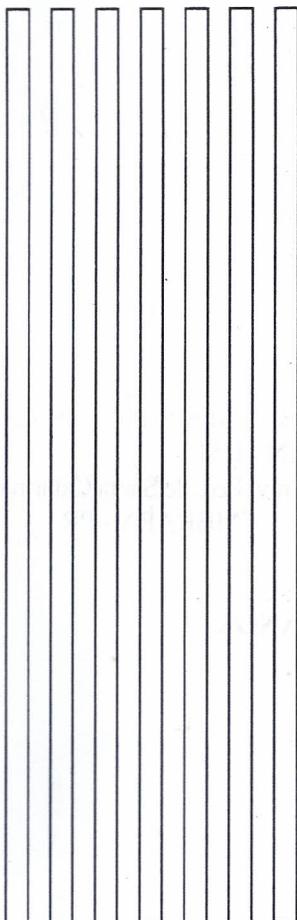
[nuinfo@iflorestsp.br](mailto:nuinfo@iflorestsp.br)



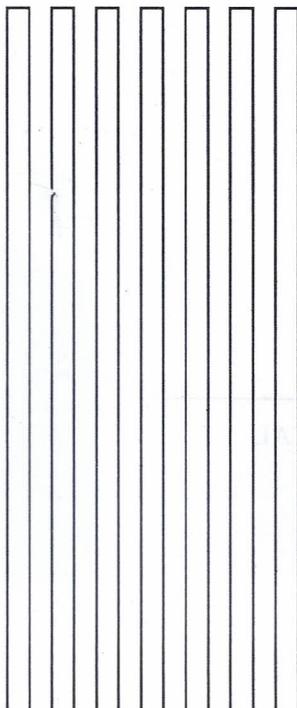
SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE

COORDENADORIA DE INFORMAÇÕES TÉCNICAS, DOCUMENTAÇÃO E PESQUISA AMBIENTAL

INSTITUTO FLORESTAL



# REVISTA DO INSTITUTO FLORESTAL



Rev. Inst. Flor.

São Paulo

v. 14

n. 2

p. 85 – 141

dez. 2002

**COMISSÃO EDITORIAL/EDITORIAL BOARD**

Demétrio Vasco de Toledo Filho  
Cybele de Souza Machado Crestana  
Edegar Giannotti  
Francisco Carlos Soriano Arcova  
Márcia Balistiero Figliolia  
Sandra Monteiro Borges Florsheim  
Yara Cristina Marcondes  
Maria Isabel Vallilo  
Reinaldo Cardinali Romanelli  
Waldir Joel de Andrade  
Ivan Suarez da Mota  
Marilda Rapp de Eston

**APOIO/SUPPORT**

Carlos Eduardo Sposito (Revisão)  
Carlos José de Araújo (Gráfica)  
Deolinda Silveira (Gráfica)

**CONSULTORES EXTERNOS DESTA EDIÇÃO:**

Dulcineia de Carvalho - Univ. Fed. de Lavras  
Edson Seizo Mori - UNESP - Botucatu  
Elisabeth de Oliveira - Instituto de Química - USP  
Elizabeth Ann Veasey - ESALQ/USP

Mario Luiz Teixeira de Moraes - UNESP - Ilha Solteira  
Marlene Flues - CNEN - IPEN - USP  
Maurício Sedrez dos Reis - Univ. Fed. de Santa Catarina  
Valderês Aparecida de Souza - EMBRAPA - PR

**SOLICITA-SE PERMUTA/EXCHANGE DESIRED/ON DEMANDE L'ÉCHANGE**

Biblioteca do Instituto Florestal  
Caixa Postal 1.322  
010509-970 São Paulo-SP-Brasil  
Fone: (011) 6231-8555  
Fax: (011) 6232-5767  
nuinfo@iflorestsp.br

**PUBLICAÇÃO SEMESTRAL/SEMESTRAL PUBLICATION****REVISTA DO INSTITUTO FLORESTAL**  
São Paulo, Instituto Florestal.

1989, 1(1-2)	1999, 11(1-2)
1990, 2(1-2)	2000, 12(1-2)
1991, 3(1-2)	2001, 13(1-2)
1992, 4	2002, 14(1-2)
1993, 5(1-2)	
1994, 6	
1995, 7(1-2)	
1996, 8(1-2)	
1997, 9(1-2)	
1998, 10(1-2)	

COMPOSTO E IMPRESSO NO INSTITUTO FLORESTAL  
dezembro, 2002

## SUMÁRIO/CONTENTS

	p.
Descrição botânica, anatomia foliar e composição química do solo e das folhas de <i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer. Botanic description, foliar anatomy and chemical composition of soil and leaves of <i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer. Maria Isabel VALLILO; João Aurélio PASTORE; Sandra Monteiro Borges FLORSHEIM; Massako NAKAOKA SAKITA .....	85 - 94
Conservação genética <i>ex situ</i> de <i>Gallesia gorarema</i> Vell. Moq. no Estado de São Paulo. <i>Ex situ Gallesia gorarema</i> Vell. Moq. genetic resources conservation in São Paulo State. Alexandre Magno SEBBENN; Antonio Carlos Scatena ZANATTO; Eurípedes MORAIS	95 - 104
Sistema de reprodução e diversidade genética em plantio de <i>Chorisia speciosa</i> St. Hil. Mating system and genetic diversity in plantation of <i>Chorisia speciosa</i> St. Hil. Andréa Quirino de LUCA; Alexandre Magno SEBBENN; Paulo Yoshio KAGEYAMA; Marcilio de ALMEIDA .....	105 - 113
Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. Tree number and genetic concepts in the seed collected for native species reforestation. Alexandre Magno SEBBENN .....	115 - 132
Variação genética em progênies de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. em diferentes sistemas de plantio. Genetic variation in progenies of <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. in different systems of plantation. Miguel Luiz Menezes FREITAS; Mario Luiz Teixeira de MORAES; Salatier BUZETTI .....	133 - 141



# DESCRIÇÃO BOTÂNICA, ANATOMIA FOLIAR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SOLO E DAS FOLHAS DE *Guarea guidonia* (L.) Sleumer\*

Maria Isabel VALLILO\*\*

João Aurélio PASTORE\*\*

Sandra Moiteiro Borges FLORSHEIM\*\*

Massako NAKAOKA SAKITA\*\*

## RESUMO

Estudou-se a composição química do solo e das folhas de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, Meliaceae, coletadas no Parque Estadual Alberto Löfgren, SP. A triagem fitoquímica foi realizada segundo técnicas descritas por Costa (1977) e Marini Bettolo *et al.* (1981). Os resultados mostraram a presença de saponinas, óleos essenciais, terpenóides, taninos e antracênos nas folhas. Para a determinação dos elementos inorgânicos, 16 nas amostras de solo e 14 nas amostras de folhas, o material botânico e solos foram tratados por via úmida (HNO<sub>3</sub> conc. e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% v/v), através da digestão por microondas e quantificados por ICP-OES. Os elementos Ba, Mg, Ca, Na, Mn, Al, P e Zn foram encontrados em maiores quantidades nas folhas do que no solo e os elementos S, Fe, K, As, Sn, Cr, Pb e Ni se apresentaram em maiores concentrações no solo. Os altos teores encontrados para As revelaram ser fitotóxico para a planta e contaminação antrópica no local amostrado. A anatomia foliar mostrou grandes quantidades de cristais de oxalato de cálcio presentes na nervura central das folhas.

Palavras-chave: *Guarea guidonia* (L.) Sleumer; folhas; solo; metabólitos secundários; elementos inorgânicos; anatomia foliar.

## 1 INTRODUÇÃO

A espécie *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, popularmente conhecida por “camboatã”, “carrapeta”, “marinheiro” ou “jitó”, pertence à família Meliaceae. É representada no Estado de São Paulo por 4 gêneros nativos (*Cabralea*, *Cedrela*, *Guarea* e *Trichilia*) e 2 introduzidos (*Aglaia* e *Melia*). O gênero *Guarea* apresenta-se com 3 espécies: *Guarea guidonia*, *Guarea kunthiana* e *Guarea macrophylla*.

*Guarea guidonia* distribui-se desde a Costa Rica e Panamá até o Paraguai. Ocorre nas matas de quase todo o Brasil, sendo abundante na Amazônia (Lorenzi, 1992). Em São Paulo tem sido encontrada nas matas mesófilas de altitude, de encosta, ciliares e de brejo, preferencialmente no interior do Estado. Floresce e frutifica praticamente

## ABSTRACT

The chemical composition of soil and leaves of *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, Meliaceae, collected from Alberto Löfgren State Park, SP, was studied. Saponins, essential oils, tannins, anthracenoids and fourteen inorganic elements, determined by ICP-OES, were noticed in leaves and sixteen in soils. The results showed that Ba, Mg, Ca, Na, Mn, Al, P and Zn were found in high concentration in the leaves; S, Fe, K, Sn, Cr, Pb, and As were found in high levels in the soil. The presence of Cu in the leaves, Zn in the leaves and soils, and Sn and As in the soil suggests a phytotoxicity for plants and a possible anthropic contamination in the collected site. The foliar anatomy showed high levels of calcium oxalate crystals in the leaves.

Key words: *Guarea guidonia* (L.) Sleumer; leaves; soil; secondary compounds; inorganic elements; foliar anatomy.

durante o ano todo, dependendo da região onde ocorre. Trata-se, em termos silviculturais, de uma espécie ainda pouco estudada e aproveitada embora apresente grande potencial econômico e ecológico. Suas folhas são consideradas tóxicas para o gado, porém, seus frutos são procurados pela avifauna, constituindo-se em espécie de grande valor ambiental (Pennington *et al.*, 1981). Por ser espécie heliófita e de características secundárias é ótima para recuperação de áreas degradadas, em povoamentos mistos. A madeira é moderadamente pesada (0,76 g/cm<sup>3</sup>) existindo informações de que foi amplamente aproveitada em Porto Rico (Record & Mell, 1924). Apresenta grande durabilidade, mesmo quando em contato com o solo e umidade, podendo ser utilizada em carpintaria, obras internas, caixotaria, forros e caixilhos de portas e janelas (Lorenzi, 1992).

(\*) Aceito para publicação em agosto de 2002.

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

Com relação à sua ação farmacológica, é relatado na literatura que os extratos brutos das folhas e frutos apresentam atividade contra vírus pseudolábeis Aujeszky (Simoni *et al.*, 1996). Por outro lado, os extratos etanólicos das sementes de *Guarea guidonia* apresentam efeito tóxico em animais e uma marcada depressão no sistema nervoso central de ratos e camundongos (Lins *et al.*, 1992).

Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, tem-se conseguido elucidar estruturas moleculares complexas de constituintes naturais. Nesse contexto, há relatos da presença de  $\beta$ -sitosterol na casca e madeira, e fissionolida nas sementes de *G. guidonia* (Rosito, 1967; Taylor, 1981).

Lins *et al.* (1992) isolaram, das sementes dessa espécie, 3 triterpenóides (3-oxo 21, 25-dihidroxi-21, 23 epoxitirucal-7 en, conhecido como melanodiol) e uma mistura epimérica de melianona. Furlan *et al.* (1993) isolaram e identificaram nove derivados de cicloartane (terpenóides) das folhas de *Guarea guidonia*.

Pouco se conhece em relação aos elementos inorgânicos encontrados em espécies florestais, embora Coley *et al.* (1985) tenham mostrado a importância dos metais na biossíntese de macro e micromoléculas orgânicas, que interfere na natureza e quantidade de compostos fenólicos. Por outro lado, as diferenças nutricionais observadas entre plantas relacionadas com absorção, transporte e utilização de nutrientes, estão sob controle genético (Epstein & Jeffries, 1964).

No solo, o movimento de metais pesados tem sido objeto de numerosas pesquisas (Biddappa *et al.*, 1982; Khan & Frankland, 1983; Williams *et al.*, 1985; Welch & Lund, 1989; Alloway, 1990). Tais estudos demonstram que os metais Pb, Cr e Cu apresentam baixa mobilidade, acumulando-se na superfície dos solos contaminados, enquanto Zn, Mn, Ni e, principalmente Cd, são relativamente mais móveis. No Brasil, são poucos os trabalhos dessa natureza.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de apresentar as principais classes de metabólitos secundários e a composição dos elementos inorgânicos presentes nas folhas de *Guarea guidonia* e no solo, bem como a descrição botânica e anatomia foliar da espécie. Os resultados obtidos, somados aos já existentes na literatura, certamente contribuirão para o conhecimento do perfil químico dessa espécie e possibilitarão avaliar uma possível ação antrópica no local amostrado.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados solos e folhas de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer coletados no Parque Estadual Alberto Löfgren, sede do Instituto Florestal, situado ao norte da cidade de São Paulo, a 23°26' de latitude Sul e 46°26' de longitude Oeste (FIGURA 1).

O clima da região é definido como mesotérmico úmido, com temperatura média e precipitação pluviométrica anual de 18°C e 1570 mm, respectivamente, não apresentando estação seca definida (Brasil, 1983).

Coletou-se material botânico fértil do único exemplar existente na área de estudo para a identificação e respectiva descrição da espécie. O mesmo se encontra depositado no Herbário Dom Bento Pickel da Seção de Madeiras e Produtos Florestais do Instituto Florestal de São Paulo, sob o Nº SPFS 21.819.

Para os estudos de anatomia foliar, procedeu-se a coleta pela retirada da 5ª folha do ramo, juntamente com o pecíolo. Os cortes transversais foram obtidos manualmente e em seguida clarificados com hipoclorito de sódio a 50%, lavados e corados com safranina. Os cortes foram montados em lâminas com glicerina e água na proporção de 1:3 (Jeffrey *apud* Johansen, 1940).

Os elementos anatômicos foram observados em equipamento de análise de imagens digitais "Image Pro-Plus", v.4.0, adaptado em câmara de vídeo Sony CCD-IRIS e a um microscópio trinocular Olympus BX 50.

Para as análises químicas, as folhas coletadas da parte superior da copa da árvore foram secas e estabilizadas à temperatura ambiente, moídas em moinho de facas de aço inox e passadas em peneira de 200 mesh.

Testes qualitativos para a detecção dos metabólitos secundários no material moído foram realizados nos extratos obtidos com solventes orgânicos de diferentes polaridades (clorofórmio, álcool etílico e água na concentração de 5 g.mL<sup>-1</sup>) conforme técnicas descritas por Costa (1977) e Marini Bettolo *et al.* (1981).

Para a extração dos óleos essenciais foi utilizado o método de CLEVINGER modificado por Wasicky (1963), através da hidrodestilação.

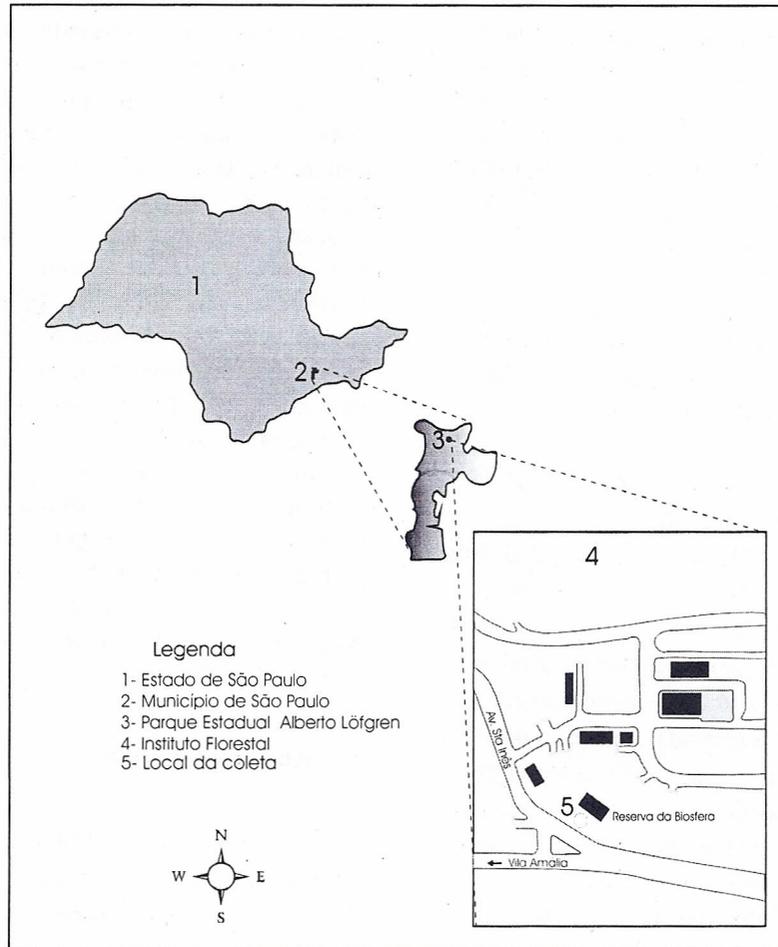


FIGURA 1 - Mapa de localização da coleta.

As amostras de solo foram coletadas em oito pontos diferentes em relação à espécie, a uma distância de 1 e 2 m e na profundidade de 0-20 cm, através de trado de aço inox. Estas foram reunidas formando uma amostra composta e, em seguida, homogeneizadas e passadas em peneira de nylon com abertura de 200 mesh.

A determinação dos elementos inorgânicos nas folhas e solo foi feita por via úmida, em triplicata, no Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, utilizando o forno de digestão assistida por microondas em sistema aberto, sob as seguintes condições de operação:

#### a) Folhas

1ª etapa: na amostra (0,5 g) foram adicionados 10 mL de  $\text{HNO}_3$  conc. Aplicou-se a potência de 20 W por 5 minutos;

2ª etapa: na solução obtida na 1ª etapa, adicionou-se 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30% v/v. Aplicou-se a potência de 20 W por 2 minutos.

A solução obtida na 2ª etapa foi esfriada, filtrada e transferida para um balão volumétrico de 50 mL e, completado o volume com água desionizada. A solução apresentou-se límpida com coloração amarela clara, com a qual quantificou-se os elementos inorgânicos.

#### b) Solos

1ª etapa: na amostra (0,5 g) foram adicionados 10 mL de  $\text{HNO}_3$  conc. Aplicou-se a potência de 35 W por 6 minutos;

2ª etapa: na solução obtida na 1ª etapa adicionou-se 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30% v/v. Aplicou-se a potência de 25 W por 3 minutos;

3ª etapa: aplicou-se por mais 5 minutos o aquecimento à potência de 35 W na solução anterior. Depois de fria, a solução foi filtrada em papel quantitativo e o filtrado recolhido em balão volumétrico de 50 mL. O volume foi completado com água desionizada.

Para a quantificação dos elementos químicos (Na, P, S, Mg, K, Ca, Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Se, Zn, Sn, Ba e Pb) nas amostras solubilizadas, utilizou-se a técnica da Espectrometria de Emissão Ótica acoplada ao Plasma Indutivamente (ICP-OES), operando à potência de 1200 W, fluxo de argônio refrigerante, auxiliar e carregador de 12 L.min.<sup>-1</sup>, 1,2 L.min.<sup>-1</sup> e 1,0 mL.min.<sup>-1</sup>, respectivamente e, a velocidade de introdução da amostra de 1,5 mL.min.<sup>-1</sup>. A leitura dos elementos foi feita na altura de observação de 12 mm da bobina de cobre do equipamento, nos seguintes comprimentos de onda ( $\lambda_s$ ) em nm:  $\lambda_{Al} = 307,271$ ;  $\lambda_{Ba} = 233,527$ ;  $\lambda_{Ca} = 422,673$ ;  $\lambda_{Cr} = 284,325$ ;  $\lambda_{Cu} = 327,396$ ;  $\lambda_{Fe} = 261,187$ ;  $\lambda_{K} = 766,491$ ;  $\lambda_{Mg} = 279,806$ ;  $\lambda_{Mn} = 260,569$ ;  $\lambda_{Ni} = 352,454$ ;  $\lambda_P = 213,618$ ;  $\lambda_{Pb} = 283,306$ ;  $\lambda_S = 182,040$ ;  $\lambda_{Zn} = 213,856$ ;  $\lambda_{Se} = 196,020$ ;  $\lambda_{As} = 188,979$ ;  $\lambda_{Na} = 589,562$  e  $\lambda_{Sn} = 189,989$ .

Para a elaboração das curvas analíticas utilizaram-se soluções estoques preparadas com sais de metais de pureza elevada, soluções padrões certificadas, água desionizada, HNO<sub>3</sub> conc. e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% (v/v) grau analítico, em concentração de 1000 µg.mL<sup>-1</sup>. Soluções de trabalhos multielementares foram preparadas em concentrações de 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10; 50 e 100 µg.mL<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> a 1% de cada elemento constituinte, por diluição das soluções estoque.

As amostras foram analisadas em triplicatas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Características Botânicas

A identificação botânica e sua respectiva descrição foram feitas com base nos conceitos taxonômicos de Pennington *et al.* (1981).

*Guarea guidonia* apresenta folhas compostas, pinadas, medindo até 35 cm de comprimento; pecíolo semicilíndrico; raque semicilíndrica, canaliculada na porção superior ou cilíndrica; peciólulo 1-5 mm, canaliculado, raramente com estrias transversais; os ramos contêm folíolos de 4 a 12 pares, opostos e/ou subopostos, elípticos, oblongos, oblanceolados ou lanceolados, cada um deles com até 20 cm de comprimento por 6 cm de largura, ápice agudo ou acuminado,

base cuneada ou atenuada, face abaxial glabra ou com poucos tricomas ao longo da nervura central, raro glandular pontuada e estriada. Tirso axilar, ou em brotos laterais curtos, 12-20 cm, esguios a largo-piramidal, difuso-puberulento a pubescente. As flores são imperfeitas, plantas dióicas, 4-meras, até 7 mm, sésseis a curto-pediceladas; cálice rotado, pateliforme ou ciatiforme, até 2,5 mm; pétalas oblongas, raro lanceoladas, pubérulas a pubescentes externamente, internamente glabras ou papilosas; anteras 8, até 1 mm, anteródios mais estreitos, indeiscentes, sem pólen; ovário 4-locular, lóculos 1-ovulado, puberulentos a denso-pubescentes, pistilódio similar, óvulos abortivos bem desenvolvidos; estilete pubescente, puberulento ou glabro. Cápsula piriforme ou globosa, 3-4 valvar, 1,5-2 cm, lisa, glabra, vinosa e lenticelada. Algumas destas descrições podem ser visualizadas na FIGURA 2.

#### 3.2 Anatomia Foliar

Em corte transversal, as epidermes adaxial e abaxial são semelhantes quanto ao tipo de células unisseriadas; a cutícula cobre as paredes periclinais externas, infiltrando-se entre as paredes anticlinais, estando mais espessa na parte superior da folha. O parênquima paliçádico é alongado, disposto regularmente e bisseriado; o parênquima lacunoso, por sua vez, é formado com 6 camadas de células que apresentam uma certa regularidade e contêm células coletoras. O feixe vascular é envolvido por uma bainha de fibras, com células poligonais, com uma certa regularidade. Na parte abaxial, algumas vezes encontram-se reentrâncias que contêm estômatos (FIGURA 3).

Na nervura central não foram localizados tricomas nas epidermes; o parênquima paliçádico pode ser notado até próximo ao colênquima. A nervura principal apresenta os feixes vasculares envolvidos por células de paredes muito espessas, formadas por dois arcos voltados para a epiderme inferior. Em toda a nervura central, foram verificados no parênquima, grandes quantidades de cristais de oxalato de cálcio (FIGURA 4).

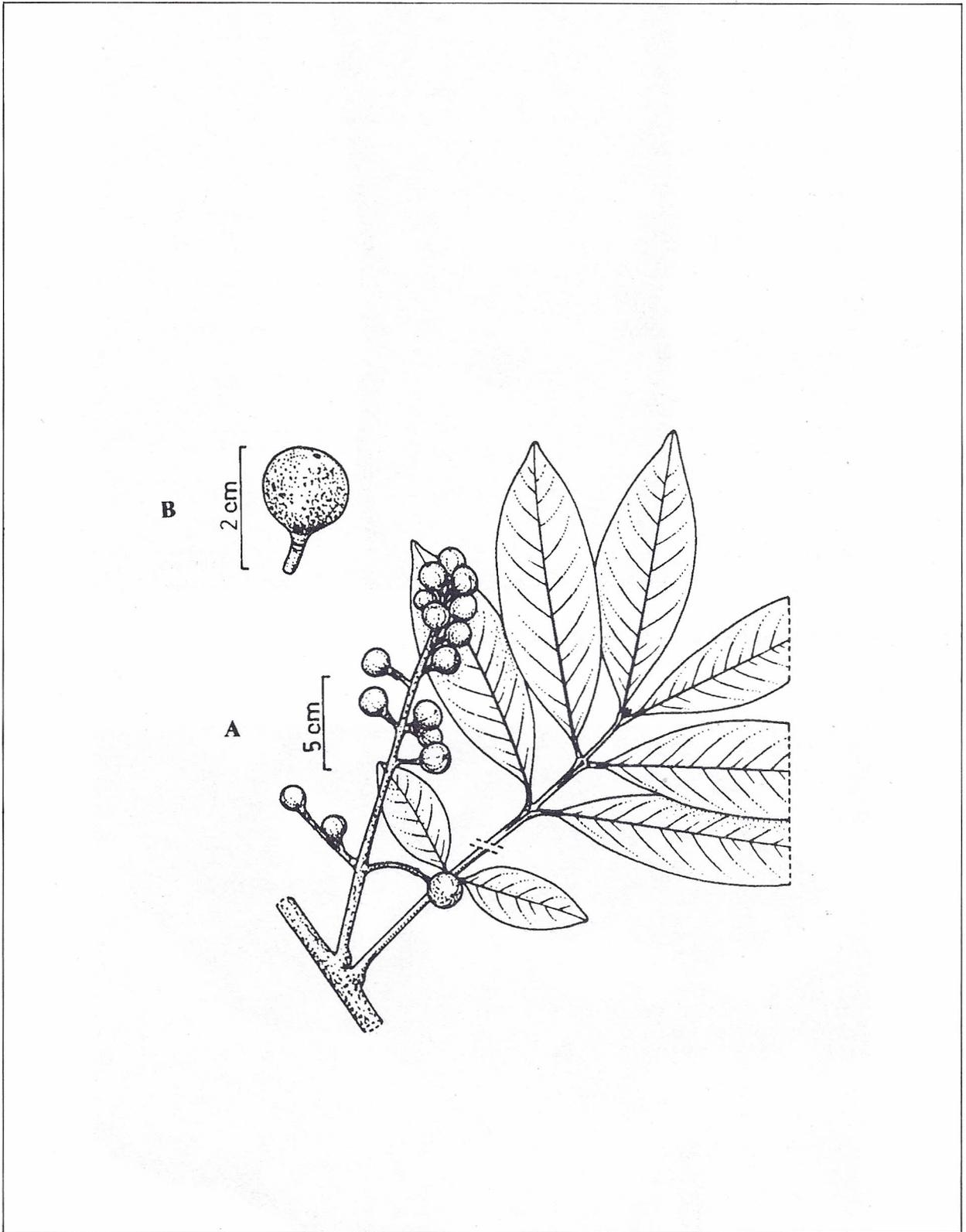
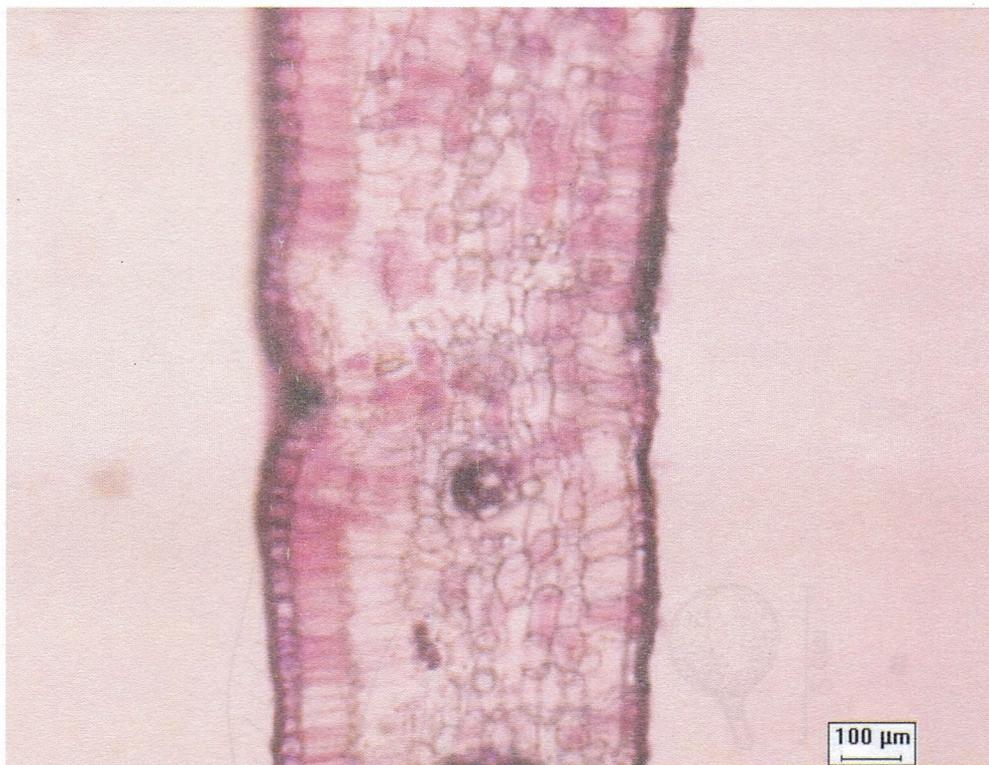


FIGURA 2 - *Guarea guidonia* (L.) Sleumer. A - ramos com folhas compostas, frutos em tirsos axilados; B - fruto isolado com pontos representando lenticelas.

FIGURA 3 - Corte transversal da folha de *Guarea guidonia*.FIGURA 4 - Detalhe da nervura principal de *Guarea guidonia*. A = cristais de oxalato de cálcio.

### 3.3 Composição Química

Nas folhas de *Guarea guidonia*, detectou-se a presença de saponinas, taninos, antraderivados, óleos essenciais, esteróides e terpenóides, e ausência de amido, mucilagem, alcalóides, cumarinas, flavanóides e glicosídeos cianogénicos. A presença de esteróides e terpenóides está de acordo com os estudos feitos por Taylor *apud* Pennington *et al.* (1981) e Furlan *et al.* (1993) que citam a presença desses compostos como comuns nessa família.

O rendimento de óleo essencial obtido nas folhas (0,14%), mostrou-se compatível quando comparado com os valores (0,1%) citados por Craveiros *et al.* (1981) na casca e lenho de *Cedrella fissilis*, espécie da mesma família, mas inferior quando comparado com os teores obtidos nas folhas de *Pseudocaryophyllus pabstianus* Legrand

(de 0,8% a 1,2% p/v) por Campos Corrêa & Gottlieb (1970); de 2,0% (p/v) nas folhas *Pseudocaryophyllus jaccoudii* Mattos; de 0,17% a 0,21% (p/v) em *Pseudocaryophyllus guili* (Speg) Burr. (Fenik & Retamar, 1972) e, de 2,1% (p/v) nas folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* var. *pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, espécies pertencentes à família Myrtaceae (Nakaoka Sakita *et al.*, 1994).

Quanto aos metais, foram quantificados 14 elementos nas folhas, sendo 9 deles encontrados na faixa dos macroatmentos ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) e 16 no solo desse espécime. Os teores nas folhas de Na, Mg, Ca, P, Al, Mn, (0,05 a  $0,85 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) mostraram-se superiores aos encontrados no solo ( $0,03$  a  $0,70 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), com exceção de Fe e S, que dentre todos os metais estudados, encontram-se bem mais concentrado no solo do que na planta. Esse comportamento pode ser observado na TABELA 1.

TABELA 1 - Concentrações médias dos macro e microelementos do solo e das folhas de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (n = 3).

Elementos	Folhas ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ )	Solos ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ )	$f_{ac}^*$
Na	0,05	0,03	1,67
K	0,09	0,10	0,90
Mg	0,22	0,03	7,33
Ca	0,85	0,20	4,25
P	0,85	0,70	1,21
Al	0,13	0,08	1,63
Mn	0,05	0,03	1,67
Fe	0,02	11,90	0,002
S	14,0	35,40	0,40
	( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	
Cr	10,75	24,20	0,44
Ni	1,19	6,68	0,18
Cu	2,24	-	
Zn	35,25	33,40	1,06
Pb	-	16,50	
Sn	-	40,40	1,06
Ba	70,45	6,16	11,44
As	-	96,00	

(\*)  $f_{ac}$  = fator de acúmulo = conc.folhas/conc.solo.

Relacionando as concentrações dos elementos encontrados nas folhas com as do solo, pode-se ter um fator de acúmulo de metais nas folhas ( $f_{ac.} = [folhas]/[solo]$ ), que para o Fe e S são iguais a 0,002 e 0,4 respectivamente, mostrando que esses elementos são poucos assimilados pela planta.

Os valores encontrados para os microelementos nas folhas (5) estão numa faixa de concentração equivalente a 1,19 a 70,40  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e no solo (7), na faixa de concentração igual a 6,16 a 96,00  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , predominando os elementos Ba, Zn e Cr com valores maiores nas folhas conforme mostra a TABELA 1. Não foram detectados os elementos Cu no solo e Pb, Sn e As nas folhas.

Em termos de acúmulo dos metais nas folhas podemos observar que obedecem a seguinte ordem de grandeza: Ba > Mg > Ca >> Na = Mn > Al > P >> K > S >>>> Fe.

Em relação ao solo e comparando com dados da literatura (TABELA 2), verificou-se que para os metais pesados e considerados tóxicos (As, Cu, Pb, Ni e Zn), somente o As apresentou-se com valores bem acima (96  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) dos recomendados como de “alerta” (a menor concentração do metal no solo que causa fitotoxicidade) pela Companhia Tecnológica de Saneamento Ambiental - CETESB (15  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), e próximo aos valores de “intervenção” pelo mesmo Órgão (100  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), em solos industriais, o que sugere uma possível contaminação antrópica do local amostrado, implicando em novos estudos da área.

No entanto, deve-se observar que a fitodisponibilidade de um metal pode variar com a presença no solo de outros constituintes orgânicos e inorgânicos como óxidos de Fe e Al, silicatos, fosfatos, carbonatos e o pH do solo (Berton *apud* CETESB, 2001 e McBride, 1994). Por outro lado, a sensibilidade aos metais pela planta depende, grandemente, das espécies vegetais e variam dentro da própria espécie botânica.

TABELA 2 - Teores recomendáveis internacionalmente e pela CETESB, de alguns microelementos inorgânicos nos solos, expressos em  $\mu\text{g.g}^{-1}$ .

Elementos	Valores Mundiais*	Valores nos Estados Unidos*	Valores “Alerta” CETESB**	Valores Intervenção**		
				Industrial	Residencial	Agricultura
As	2,2 - 25	3,6 - 8,8	15	100	50	25
Ba	84 - 838	265 - 835	150			
Cr	7 - 221	20 - 85	75			
Cu	6 - 80	14 - 29	60			
Pb	10 - 84	17 - 26	100			
Ni	4 - 55	13 - 30	30			
Zn	17 - 125	34 - 84	300			

(\*) McBride, 1994.

(\*\*) CETESB, 2001.

#### 4 CONCLUSÕES

Considerando-se os objetivos deste trabalho e as condições específicas sob as quais foi conduzido, os resultados obtidos permitiram chegar às seguintes conclusões:

- as folhas de *Guarea guidonia* contêm saponinas, óleo essencial, terpenóides, taninos e antraderivados;
- as folhas assimilam em maiores quantidades os elementos Ba, Mg, Ca, Na, Mn, Al e P;

- o elemento Ca está presente na folha, na forma de cristais de oxalato de cálcio na nervura central dos folíolos;
- no solo, os macroelementos S, Fe e K prevalecem em maiores concentrações enquanto para os micros, destacam-se As, Sn, Zn, Cr, Pb e Ni, e
- os resultados mostraram a necessidade de novos estudos e de um monitoramento de metais pesados no solo, principalmente de arsênico (As), visto que os teores encontrados são fitotóxicos, bem superiores aos recomendados pela literatura, pontuais e não se aplicam às áreas totais do Parque.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dra. Elisabeth de Oliveira do Instituto de Química-USP pelo auxílio nas análises químicas deste trabalho, e à geógrafa Isabel F. A. Mattos pela elaboração do mapa de localização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLOWAY, B. J. The origins of heavy metals in soil. In: ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990. p. 29-39.
- BIDDAPPA, C. C.; CHINO, M.; KUMAZAWA, K. Migration of heavy metals in two Japanese soils. **Plant Soil**, Netherlands, v. 66, p. 299-316, 1982.
- BOLSMAN, H.; PAENHUYS, J. The distribution of heavy metals in the soils of the Kempen. **Pedologie**, Ghent, v. 30, n. 2, p. 191-223, 1980.
- BRASIL. Ministério das Minas e Energia. Projeto RADAMBRASIL. **Folhas SF 23/24, Rio de Janeiro/Vitória**. Rio de Janeiro: Ministério das Minas e Energia, 1983. 780 p. (Levantamento de Recursos Naturais, 32).
- CAMPOS CORREA, R. G.; GOTTLIEB, O. R. Óleo essencial da mirtácea *Pseudocaryophyllus pabstianus*. **Boletim do INPA**, Manaus, n. 11, p. 1-5, 1970.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2001. 245 p. (Série Relatórios Ambientais).
- COLEY, P. D.; BRYANT, J. R.; STUART CHAPIN III, F. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, Washington, D.C., v. 230, n. 4728, p. 875-878, 1985.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia III**. Lisboa: Fundação C. Gulbenkian, 1977. 1032 p.
- CRAVEIRO, A. A. *et al.* **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edições Universidade Federal do Ceará, 1981. 210 p.
- EPSTEIN, E.; JEFFRIES, R. L. The genetic basis of selective ion transport in plants. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 15, p. 169-184, 1964.
- FENIK, I. J. S.; RETAMAR, J. A. El aceite esencial de *Pseudocaryophyllus guili* (Guili). In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 5., 1971, Rio de Janeiro. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 175-180, 1972.
- FURLAN, M.; ROQUE, N. F.; WOLTER FILHO, W. Cicloartane derivatives from *Guarea trichilioides*. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 32, n. 6, p. 1519-1522, 1993.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.
- KHAN, D. H.; FRANKLAND, B. Effects of cadmium and lead on radish plants with particular reference to movement of metals through soil profile and plant. **Plant Soil**, Netherlands, v. 70, p. 335-345, 1983.
- LINS, A. P. *et al.* Chemical and pharmacological aspects of *Guarea guidonia*. **Rev. Latinoamer. Quím.**, Monterrey, v. 22, n. 4/v. 23, n.1, p. 30-33, 1992.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras; manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum Ltda., 1992. 252 p.
- McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1994. 406 p.
- MARINI BETTOLO, G. B. *et al.* Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field conditions. **Journal of Chromatograph**, Amsterdam, v. 213, p. 113-127, 1981.
- NAKAOKA SAKITA, M. *et al.* Óleo essencial de *Pimenta pseudocaryophyllus* var. *pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum (Myrtaceae). I. Cromatografia a gás/espectrometria de massa (CG/EM). **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 6, n. único, p. 53-61, 1994.
- PENNINGTON, T. D.; STYLE, B. T.; TAYLOR, D. A. H. **Flora Neotropica: Meliaceae**. New York: The New York Botanical Garden, 1981. 470 p. (Monograph, 28).
- RECORD, S. J.; MELL; C. D. **Timbers of Tropical America**. New Haven: Yale University, 1924. 610 p.

ROSITO, C. M. **Fitoquímica das Meliaceae:** estrutura do fissinólida. 1967. 67 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SIMONI, I. C. *et al.* Antiviral activity of crude extracts of *Guarea guidonia*. **Bras. J. Med. Biol. Res.**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 647-650, 1996.

TAYLOR, D. A. H. The occurrence of Limonoids in the Meliaceae. New York: The New York Botanical Garden, 1981. p. 450-459. (Flora Neotropica Monograph, 28).

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleo essencial. **Rev. Fac. Farm. e Bioq.**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 77-81, 1963.

WELCH, J. E.; LUND, L. J. Zinc movement in sewage sludge treated soils as influenced soil properties, irrigation water quality and soil moisture level. **Soil Sci.**, Baltimore, v. 147, p. 208-214, 1989.

WILLIAMS, D. E. *et al.* Metal movement in sludge treated soils after six years of sludge addition: Nickel, Cobalt, Iron, Manganese, Chromium and Mercury. **Soil Sci.**, Baltimore, v. 140, p. 25-130, 1985.

CONSERVAÇÃO GENÉTICA *EX SITU* DE *Gallesia gorarema* Vell. Moq.  
NO ESTADO DE SÃO PAULO\*

Alexandre Magno SEBBENN\*\*  
Antonio Carlos Scatena ZANATTO\*\*  
Eurípedes MORAIS\*\*

RESUMO

A intensa degradação, fragmentação e isolamento de populações naturais de espécies arbóreas no Estado de São Paulo levaram à necessidade da conservação genética *ex situ* do germoplasma remanescente, antes que ele se perca. Com esse intuito, o Instituto Florestal de São Paulo vem, desde 1981, conservando *ex situ* três populações de *Gallesia gorarema* (pau d'alho). O ensaio foi instalado na Estação Experimental de Luiz Antonio, utilizando o delineamento de blocos de famílias compactas, com três populações e 17 a 21 progênies/população, cinco indivíduos por subparcela e seis repetições. Os caracteres DAP, altura, volume e sobrevivência, aos 10 anos de idade, foram avaliados pelas médias, análise da variância e parâmetros genéticos. Foram detectadas variâncias genéticas significativas entre populações e progênies/população para todos os caracteres. Os componentes da variância revelaram que a maior parte da variabilidade genética se encontra distribuída dentro de populações. As correlações genéticas e fenotípicas foram altas entre os caracteres ( $> 0,8$ ), sugerindo fortes efeitos pleiotrópicos e que a seleção em um caráter pode capitalizar ganhos indiretos em outro. As estimativas da resposta esperada com a seleção indicaram a possibilidade de ganhos genéticos expressivos, via seleção dentro de progênies, não colocando em risco a estratégia de conservação *ex situ* de *G. gorarema*. Finalmente, as estimativas do tamanho efetivo e baixa probabilidade de não retenção de alelos raros dentro das populações mostraram que a estratégia amostral adotada foi eficiente para reter *ex situ* parte do potencial evolutivo das populações.

Palavras-chave: conservação genética *ex situ*; *Gallesia gorarema*; teste de progênies e procedências; espécies arbóreas brasileiras; genética quantitativa.

ABSTRACT

Since 1981, the São Paulo Forest Institute (IFSP) has been conserving *ex situ* *Gallesia gorarema* (pau d'alho) populations in São Paulo State. The *ex situ* conservation bank is located at Luiz Antonio Experimental Station, in a compact family block design, with three populations, 17 to 21 families per population, five individuals per subplot and six replications. The DBH, height, volume and survival traits were measured at ten years old. Variation analysis for all traits revealed significant genetic differences among populations and families/population. The components of variation showed that the most of genetic variability was within population. The genetic and phenotypic correlations between traits were high ( $> 0.8$ ) showing the possibility of selection in one trait while obtaining gain in another. The genetic gain within families showed the possibility to obtain expressive gains (minimum 5.7%). Finally, the effective size estimation and the low probability of not retaining rare alleles within populations revealed that the adopted sampling strategy was efficient to preserve the intrapopulation evolutionary potential and retain at least rare alleles within each population.

Key words: *ex situ* conservation; *Gallesia gorarema*; progenies and provenance trials; Brazilian tree species; quantitative genetics.

(\*) Aceito para publicação em setembro de 2002.

(\*\*) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países que possui uma das maiores biodiversidades de espécies arbóreas, apenas no Estado de São Paulo, estima-se que existam aproximadamente 2.000 diferentes espécies arbóreas (Kageyama *et al.*, 2001). Contudo, dessa vasta biodiversidade muito pouco tem sido aproveitado. Nos dois últimos séculos as florestas no Estado de São Paulo foram intensiva e desordenadamente exploradas. A área do Estado ocupada por florestas no final do século 19 era de aproximadamente 87%, mas em 1975 estimou-se que restavam somente 7% (Victor, 1975). A exploração visava apenas à retirada de madeiras valiosas e à abertura de campos para agricultura, em especial para o cultivo do café e da cana-de-açúcar. Com exceção de *Araucaria angustifolia*, praticamente nenhuma outra espécie arbórea nativa foi utilizada em reflorestamentos visando à produção de madeira. Essa intensa devastação, provavelmente, levou à perda de inúmeras espécies, inclusive aquelas de valor medicinal. Ainda hoje, muito pouco ou quase nada é feito em termos de reflorestamento visando à produção de madeira nativa ou estudos do potencial dessas espécies para utilização medicinal. Isto leva à necessidade de conservar os remanescentes florestais em condições naturais (*in situ*) e fora de seu ambiente (*ex situ*), para futura utilização, antes que os mesmos se extingam.

Muitas das espécies arbóreas de ocorrência no Estado de São Paulo encontram-se na lista das espécies em extinção da Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (FAO, 1996). Dentre essas, ressalta-se *Gallesia gorarema* Vell. Moq. (Phytolaccaceae) ou pau d'alho, espécie de reconhecido valor comercial. Essa espécie se distribui naturalmente entre as coordenadas geográficas 04°S (CE) a 25°30'S (PR) (Carvalho, 1994).

Sua ampla distribuição geográfica e ocorrência em diferentes habitats contribuem para que a espécie apresente altos níveis de variabilidade genética. Entretanto, como a maior parte de seus ambientes naturais desapareceram por pressão antrópica, acredita-se que muito pouco desta variabilidade esteja hoje ainda presente.

Em condições naturais, *G. gorarema* apresenta de 10 a 20 m de altura e 40 a 80 cm de DAP, podendo atingir até 30 m de altura e 100 cm ou mais de DAP. O tronco apresenta sapopemas de tamanhos regulares e fuste com até 15 metros de altura. A madeira é de utilidade confirmada para serrarias, produção de energia e celulose e papel. A casca, folhas e raiz têm utilidade medicinal (Carvalho, 1994).

A conservação genética *ex situ* de *G. gorarema* visa manter amostras representativas de populações, para que, depois de caracterizadas e avaliadas, estejam disponíveis para o melhoramento genético ou pesquisas correlatas. Assim, este trabalho teve por objetivos avaliar a distribuição da variação genética entre e dentro de três populações de *G. gorarema*, a eficiência amostral adotada para sua conservação genética *ex situ*, conhecer a herança dos principais caracteres adaptativos e propor um esquema de seleção que capitalize ganhos genéticos para a produção de madeira, mas que mantenha parte da variação genética conservada.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostragem e Delineamento Experimental

Sementes de polinização aberta foram coletadas em três populações naturais de *G. gorarema* no Estado de São Paulo (TABELA 1). Na coleta, a identidade das progênies foi mantida e o número de progênies amostradas por população variou de 17 a 21 (TABELA 1).

TABELA 1 - Coordenadas geográficas das populações e número de progênies amostradas por população.

	Populações	Progênies	Lat. (° S)	Long. (° W)	Alt. (m)
1	Ribeirão Preto-SP	17	21°11'	47°51'	530
2	Campinas-SP	20	22°55'	47°03'	652
3	Bauru-SP	21	22°23'	48°50'	500

O experimento foi estabelecido em dois locais: Estação Experimental de Pederneiras e Estação Experimental de Luiz Antonio, SP, do Instituto Florestal de São Paulo. Contudo, um incêndio dizimou o ensaio de Pederneiras. Assim, aqui será avaliado apenas o ensaio de Luiz Antonio. A E.E. de Luiz Antonio localiza-se nas coordenadas 21°40'S, 47°49'W, altitude de 550 m, com clima tropical (Cwa), inverno seco, precipitação média anual de 1.280 mm e solo do tipo Latossolo Roxo. O delineamento experimental adotado foi o de blocos de famílias compactas com seis repetições, três populações (efeito de parcela), 17 a 21 progênies/população (efeito de subparcela) e cinco plantas por subparcela. O espaçamento utilizado foi o de 3,0 x 3,0 m. Também foi adotada uma bordadura de duas linhas da mesma espécie. As sementes foram coletadas em setembro de 1981 e as mudas foram plantadas em outubro de 1982. O ensaio foi medido em 1993 para sobrevivência, DAP (diâmetro a altura do peito - 1,3 m), altura total e volume. O volume foi estimado para árvores individuais por  $V_r = [\pi (DAP / 100)^2 / 4]h$ , em que  $h$  é a altura.

## 2.2 Estimativa de Componentes da Variância

Como o experimento era desbalanceado, devido ao número desigual de árvores sobreviventes por subparcelas e ao desigual número de progênies por população, utilizou-se o método de REML (Restricted Maximun Likelihood) para as estimativas dos componentes da variância. O procedimento REML do programa estatístico SAS (SAS, 1999) foi usado para encontrar os componentes da variância pelo modelo de máxima verossimilhança restrita, combinado com o comando VARCOMP.

Foi assumido um modelo aleatório para estimar os componentes da variância. O modelo usado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + b_i + t_j + f_{j:k} + (tb)_{ij} + (fb)_{j:ki} + e_{ijkl} \quad (1)$$

em que,  $Y_{ijkl}$  é o valor fenotípico do  $l$ -ésimo indivíduo da  $k$ -ésima progênie da  $j$ -ésima população na  $i$ -ésima repetição;  $\mu$  é o termo fixo da média total;  $b_i$  é o efeito aleatório da  $i$ -ésima repetição;  $t_j$  é o efeito aleatório da  $j$ -ésima população;

$f_{j:k}$  é o efeito aleatório da  $k$ -ésima progênie na  $j$ -ésima população;  $(tb)_{ij}$  é o efeito da interação entre a  $j$ -ésima população e a  $i$ -ésima repetição;  $(fb)_{j:ki}$  é o efeito da interação entre a  $k$ -ésima progênie da  $j$ -ésima população e  $i$ -ésima repetição;  $e_{ijkl}$  é o efeito da  $l$ -ésima árvore dentro da  $k$ -ésima progênie da  $j$ -ésima população na  $i$ -ésima repetição. Esta última inclui os efeitos do erro;  $i = 1 \dots b$  ( $b$  é o número de repetições);  $j = 1 \dots t$  ( $t$  é o número de populações);  $k = 1 \dots m$  ( $m$  é o número de progênies dentro das populações);  $l = 1 \dots n$  ( $n$  é o número de árvores por progênie).

Os componentes de variância estimados foram:  $\hat{\sigma}_p^2$  = variância genética entre populações;  $\hat{\sigma}_{p/p}^2$  = variância entre progênies/população;  $\hat{\sigma}_e^2$  = variância ambiental;  $\hat{\sigma}_d^2$  = variância fenotípica dentro de progênies.

## 2.3 Estimativa de Parâmetros Genéticos

O cálculo da variância genética e fenotípica, herdabilidades, correlações genéticas e fenotípicas e ganhos esperados pela seleção seguem Namkoong (1979) e Falconer & Mackay (1997). O erro padrão das herdabilidades foi calculado pelo método proposto por Namkoong (1979). Os cálculos do tamanho efetivo populacional e da probabilidade de que alelos raros foram perdidos na amostragem foram obtidos com base em Vencovsky (1978) e Brown & Hardner (2000), respectivamente. As progênies foram assumidas como sendo de meias-irmãs e a variância genética aditiva ( $\hat{\sigma}_A^2$ ), estimada por  $\hat{\sigma}_A^2 = 4\hat{\sigma}_{p/p}^2$ .

Os coeficientes de herdabilidade em nível de plantas individuais ( $\hat{h}_i^2$ ), entre progênies ( $\hat{h}_f^2$ ) e dentro de progênies ( $\hat{h}_d^2$ ) foram estimados por:

$$\hat{h}_i^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_F^2} \quad (3), \quad \hat{h}_f^2 = \frac{\hat{\sigma}_{p/p}^2}{\frac{\hat{\sigma}_d^2}{nb} + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{b} + \hat{\sigma}_{p/p}^2} \quad (4),$$

$$\hat{h}_d^2 = \frac{(3/4)\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_d^2} \quad (5)$$

em que,  $\hat{\sigma}_F^2$  é a variância fenotípica total estimada por  $\hat{\sigma}_F^2 = \hat{\sigma}_d^2 + \hat{\sigma}_e^2 + \hat{\sigma}_{p/p}^2$  (6).

As correlações fenotípicas e genéticas entre os caracteres foram estimadas para árvores individuais de acordo com as expressões:

$$\hat{r}_{P_{xy}} = \frac{\hat{\sigma}_{P_x P_y}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{P_x}^2 \hat{\sigma}_{P_y}^2}} \quad (7), \quad \hat{r}_{g_{xy}} = \frac{\hat{\sigma}_{f_x f_y}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{f_x}^2 \hat{\sigma}_{f_y}^2}} \quad (8)$$

onde  $\hat{r}_{P_{xy}}$  e  $\hat{r}_{g_{xy}}$  são os coeficientes de correlações fenotípicas e genéticas;  $\sigma_{P_x P_y}$  e  $\sigma_{f_x f_y}$  são os produtórios fenotípicos e genéticos dos caracteres  $x$  e  $y$ ;  $\hat{\sigma}_{P_x}^2$ ,  $\hat{\sigma}_{f_x}^2$  e  $\hat{\sigma}_{P_y}^2$ ,  $\hat{\sigma}_{f_y}^2$  são as variâncias fenotípicas e genéticas entre progênies/população dos caracteres  $x$  e  $y$ , respectivamente.

A resposta à seleção ( $\hat{R}$ ) foi estimada por:  $\hat{R} = i \hat{\sigma}_d \hat{h}_d^2$  (9), onde  $i$  é a intensidade de seleção em unidade de desvio padrão e  $\hat{\sigma}_d$  é o desvio padrão da variância fenotípica dentro de progênies. Foram selecionadas  $\frac{1}{5}$  das árvores dentro de progênies. A resposta à seleção em porcentagem [ $\hat{R}(\%)$ ] foi estimada por:  $\hat{R}(\%) = \frac{\hat{R}}{\bar{X}} \times 100$  (10).

O tamanho efetivo antes e após a seleção ( $\hat{N}_e$ ) foi estimado para cada população por:

$$\hat{N}_e = \frac{4m\bar{n}}{\frac{\hat{\sigma}_n^2}{\bar{n}} + \bar{n} + 3} \quad (11)$$

sendo que,  $\bar{n}$  e  $\hat{\sigma}_n^2$  representam o número de progênies/população, média do número de plantas por progênie e a variância no número de plantas por progênies.

A eficiência amostral da conservados *ex situ* foi medida pela probabilidade ( $\hat{P}_{[MI]}$ ) de que um alelo de frequência  $q$  não ser amostrado em  $n$  indivíduos meios-irmãos originados de  $m$  árvores matrizes:

$$\hat{P}_{[MI]} = (1 - q)^{mn} \left[ 1 - 2q \left( 1 - \frac{1}{2^n} \right) \right]^m \quad (13).$$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Variação Genética, Componentes da Variância e Taxa de Crescimento

Foram detectadas diferenças altamente significativas ( $P \leq 0,001$ ) pelo teste F da análise da variância, entre populações e progênies/população para todos os caracteres avaliados (TABELA 2). As variações genéticas significativas detectadas para o efeito de populações indicam que as diferenças entre as populações de *G. gorarema* são realmente contrastantes, caso contrário a análise da variância não teria detectado diferenças em apenas três populações. As variações genéticas entre populações e progênies/população também mostram que o banco de conservação *ex situ* reteve parte da variabilidade genética quantitativa e, portanto, está apto para conservação e melhoramento da espécie.

TABELA 2 - Quadrados médios para DAP, altura e volume aos 10 anos de idade em teste de progênies/população de *G. gorarema* em Luiz Antonio, SP.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios		
		DAP (cm)	Altura (m)	Volume (m <sup>3</sup> )
Blocos	5	27,7325	18,4691**	0,0092
População	2	235,9971***	199,9746***	0,4037***
Progênies/População	55	75,7281***	22,3409***	0,0774***
Resíduo	274	27,1052	12,5598	0,0287

(\*\*)  $P \leq 0,01$ .

(\*\*\*)  $P \leq 0,001$ .

Os componentes de variância, calculados pelo método REML e suas relativas contribuições para a variância total são apresentados na TABELA 3.

O componente da variância atribuído a populações foi baixo para o DAP e Volume e nulo para altura, revelando que menos de 1% da variação genética se encontra entre populações. O componente atribuído à progênes/população apresentou valores consistentes para os caracteres, indicando que aproximadamente 6% da variação total encontra-se entre progênes/população. O componente atribuído à indivíduos/progênie mostrou que pelo menos 92% da variação total encontra-se dentro das progênes. Esses resultados agregam-se à grande maioria dos estudos de estrutura populacional de espécies arbóreas tropicais e temperadas via caracteres quantitativos (Hamrick, 1976; Christophe & Birot, 1979; Li *et al.*, 1993; Moraes, 1993; Zheng *et al.*, 1994; Kehlet & Roulund, 1998; Buliuckas *et al.*, 1999; Rehfeldt, 1999; Siqueira *et al.*, 2000; Sebbenn *et al.*, 1999a; 1999b; 2001) e via isoenzimas (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick & Godt, 1990). Estudos em espécies arbóreas têm mostrado que a maior parte da variação genética se encontra

distribuída dentro das populações. Essa estrutura populacional é típica de espécies alógamas ou de reprodução mista predominantemente alógamas, que apresentam altas taxas de fluxo gênico entre populações. A reprodução predominante por cruzamentos, combinada com o fluxo contínuo de genes entre populações, aumenta a similaridade genética entre as populações, reduzindo a tendência à diferenciação por seleção e/ou deriva genética. A baixa diferenciação genética entre as populações aqui estudadas reflete um padrão de estrutura populacional formado no passado. No final do século 19, grande parte do Estado de São Paulo era coberta por florestas contínuas (87%) e as populações possivelmente eram interligadas por um modelo de fluxo gênico do tipo "isolamento por distância". No modelo de isolamento por distância as trocas gênicas ocorrem entre populações vizinhas e a divergência genética entre populações tende a aumentar conforme aumenta a distância entre as populações. Como *G. gorarema* apresenta uma ampla distribuição geográfica (ocorre do Paraná ao Ceará) e as populações aqui em estudo compreendem apenas uma pequena parte dessa distribuição (Estado de São Paulo), era de se esperar baixa divergência genética entre as populações.

TABELA 3 - Componentes da variância e porcentagem relativa para populações ( $\hat{\sigma}_p^2$ ), progênes/população ( $\hat{\sigma}_{p/p}^2$ ) e dentro de progênes ( $\hat{\sigma}_d^2$ ) em *G. gorarema*.

Fonte de variação	DAP (cm)		Altura (m)		Volume (m <sup>3</sup> )	
	Variância	% relativa	Variância	% relativa	Variância	% relativa
$\hat{\sigma}_p^2$	0,1142	0,5	0	0	0,00019	0,7
$\hat{\sigma}_{p/p}^2$	1,7519	7,2	0,3517	6,0	0,00175	6,7
$\hat{\sigma}_d^2$	22,3544	92,3	5,5067	94,0	0,02429	92,6
$\hat{\sigma}_T^2$	24,2205	100,0	5,8584	100,0	0,02623	100,0

Na TABELA 4 são apresentadas as taxas de sobrevivência e crescimento médio dos caracteres para as populações. A sobrevivência foi alta (média 94%), sugerindo boa adaptação das populações ao local de experimentação. Os maiores crescimentos para os caracteres foram observados na população Ribeirão Preto-SP e os menores para a população Campinas-SP. Os crescimentos dos caracteres na população Ribeirão Preto foram de

10% a 22% superiores aos apresentados pela população Campinas. O melhor desempenho para a população Ribeirão Preto, possivelmente, está associado ao fato dessa população estar mais próxima ao local de experimentação (Luiz Antonio). Seu melhor desempenho seria atribuído à similaridade ambiental entre o local de origem da população e o local de experimentação, logo, pode estar associado à seleção para adaptação específica.

TABELA 4 - Taxa de sobrevivência, crescimento (média  $\pm$  erro padrão) e incrementos médios anuais (IMA) aos 10 anos de idade para populações de *G. gorarema*, em Luiz Antonio, SP.

População	Sobrevivência (%)	DAP (cm)	Altura (m)	Volume (m <sup>3</sup> )
Ribeirão Preto-SP	94,8	14,28 $\pm$ 5,19	11,39 $\pm$ 3,14	0,230 $\pm$ 0,184
Campinas-SP	95,9	12,98 $\pm$ 4,93	10,32 $\pm$ 3,05	0,178 $\pm$ 0,149
Bauru-SP	92,1	13,79 $\pm$ 5,11	11,34 $\pm$ 2,97	0,216 $\pm$ 0,180
Média	94,2	13,68 $\pm$ 0,66	11,01 $\pm$ 0,60	0,208 $\pm$ 0,027
IMA	---	1,37	1,10	0,021

Igualmente aos crescimentos, o incremento médio anual (IMA) foi alto para a média das populações em todos os caracteres, sugerindo uma ótima adaptação e desenvolvimento da espécie em Luiz Antonio. O incremento médio anual em altura mantém-se superior a um metro. Siqueira *et al.* (1999), estudando uma população de *G. gorarema* procedente de Tenente Portela-PR, também plantada em Luiz Antonio, observaram IMA aos nove anos de idade, muito semelhantes aos aqui obtidos (1,1 m/ano). A espécie parece adaptar-se bem às condições de Luiz Antonio e à região, portanto, tem potencial para o reflorestamento com *G. gorarema*, visando à produção de madeira.

### 3.2 Correlações Genéticas e Fenotípicas, Herdabilidades e Ganhos na Seleção

As correlações genéticas e fenotípicas foram altas e significativas entre os caracteres, mostrando fortes efeitos pleiotrópicos e, portanto, a possibilidade de seleção em um caráter e a obtenção de ganhos indiretos em outro (TABELA 5). As correlações genéticas foram maiores do que as fenotípicas, indicando maior eficiência na seleção de uma caráter com o melhoramento indireto em outro, em teste de progênies, relativamente à seleção massal.

TABELA 5 - Correlações genéticas ( $\hat{r}_g$  - diagonal superior) e fenotípicas ( $\hat{r}_F$  - diagonal inferior) para *G. gorarema*, em Luiz Antonio, SP.

Caráter	DAP	Altura	Volume
DAP	-	0,90**	0,97**
Altura	0,84**	-	0,86**
Volume	0,94**	0,90**	-

(\*\*)  $P \leq 0,01$ .

O coeficiente de herdabilidade em nível de médias de progênies ( $\hat{h}_f^2$ ) apresentou valores mais altos do que os coeficientes em nível de plantas individuais ( $\hat{h}_i^2$ ) e dentro de progênies ( $\hat{h}_d^2$ ) (TABELA 6), evidenciando que maiores ganhos poderão ser obtidos pela seleção entre progênies/população do que pela seleção massal no ensaio e dentro de progênies. O DAP mostrou as maiores herdabilidades, logo, também maior potencial para a seleção. Além disso, DAP é o caráter de mais fácil mensuração e deve, portanto, ser preferível para a seleção. De acordo com o erro padrão, todas as estimativas de herdabilidades foram significativamente diferentes de zero.

O coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ) foi alto para todos os caracteres ( $> 5\%$ ), em especial para o DAP e o volume (TABELA 6). O  $CV_g$  varia consideravelmente entre diferentes espécies, populações, locais e idades de avaliação. Em espécies arbóreas, existem relatos de valores de até 22%, para os caracteres DAP e altura (Gurgel Garrido *et al.*, 1999; Sebbenn *et al.*, 1999c), mas de forma geral, estes valores têm sido inferiores a 10% (Gurgel Garrido *et al.*, 1994; 1999; Oliveira *et al.*, 2000; Sebbenn *et al.*, 1998; 1999b; 2000; Siqueira *et al.*, 1999; 2000). Pode-se então, afirmar com base nos valores de  $CV_g$  aqui observados, que o material genético tem potencial para a conservação e o melhoramento genético.

TABELA 6 - Herdabilidades em nível de plantas individuais ( $\hat{h}_i^2$ ), média de progênies ( $\hat{h}_f^2$ ), dentro de progênies ( $\hat{h}_d^2$ ), coeficiente de variação genética ( $CV_g$ ) e porcentagem de resposta à seleção dentro de progênies ( $\hat{R}$ ), em *G. gorarema*.

Parâmetros	DAP	Altura	Volume
$\hat{h}_i^2$	0,280 (0,014)	0,191 (0,016)	0,261 (0,013)
$\hat{h}_f^2$	0,609 (0,015)	0,334 (0,044)	0,599 (0,015)
$\hat{h}_d^2$	0,235 (0,013)	0,192 (0,013)	0,216 (0,012)
$CV_g$	9,7%	5,4%	20,2%
$\hat{R}$	11,4%	5,7%	22,8%

( ) Erro padrão.

Como o principal objetivo deste trabalho era a conservação e não o melhoramento genético, a resposta esperada com a seleção foi estimada apenas para seleção dentro de progênies. A intensidade de seleção dentro das progênies foi de 20% ou a seleção de uma árvore por subparcela, totalizando seis árvores por progênie no ensaio (6:30). A seleção dentro de progênies manterá a taxa de crescimento maximizada, pela redução na competição por nutrientes e luz entre árvores e reduzirá a probabilidade de cruzamento entre irmãos. Os ganhos genéticos esperados pela seleção dentro de progênies foram altos para todos os caracteres (> 5%), em especial para o DAP e o volume (TABELA 6), indicando ótimos progressos com a seleção, sem a exclusão de progênies.

### 3.3 Tamanho Efetivo e Tamanho da Amostra

O tamanho efetivo variou entre populações (TABELA 7). A população Bauru apresentou o maior tamanho efetivo (76) e a população Ribeirão Preto o menor (61). Contudo, todas as populações atingiram mais de 90% do tamanho efetivo máximo possível esperado, caso tivessem sido coletadas infinitas sementes (> 10.000) em cada progênie ( $\hat{N}_e = 4N_f$ ). A seleção de seis árvores por progênie reduziu o tamanho efetivo em aproximadamente 26% nas populações, mas manteve 67% do valor máximo esperado.

TABELA 7 - Tamanho efetivo ( $\hat{N}_e$ ), porcentagem máxima do tamanho efetivo [ $\hat{N}_e$  (%)] e probabilidade ( $P$ ) da amostra não conter um alelo de frequência 0,05 antes e após a seleção dentro de progênies em populações de *G. gorarema*.

Populações	Antes da seleção			Após a seleção <sup>a</sup>		
	$\hat{N}_e$	$\hat{N}_e$ (%)	$P$	$\hat{N}_e$	$\hat{N}_e$ (%)	$P$
1 Ribeirão Preto - SP	61,2	90,0	0,0	45,3	66,7	0,005
2 Campinas - SP	72,3	90,3	0,0	53,3	66,7	0,002
3 Bauru - SP	75,7	90,1	0,0	56,0	66,7	0,002
	$\Sigma$ 178,5			$\Sigma$ 154,6		

(a) Seleção de 6 indivíduos/progênie.

Antes da seleção, o valor de  $\hat{N}_e$  estava acima do mínimo requerido ( $\hat{N}_e = 50$ ) para a conservação da variabilidade genética em locos com dois alelos, no curto prazo (Frankel & Soulé, 1981). Após a seleção, o tamanho efetivo para a população Ribeirão Preto (46) ficou um pouco abaixo do limite (50). Porém, esse fato não trará problemas para a conservação, porque a recombinação do material incluirá as três populações e o tamanho efetivo total conservado no ensaio (155) é muito superior ao mínimo requerido. A baixa diferenciação genética detectada entre populações permite a recombinação dos indivíduos de diferentes populações sem colocar em risco o aparecimento da depressão por cruzamento, ou em outros termos, da quebra de blocos gênicos adaptados a condições específicas de colonização da espécie. Outra vantagem será a ampliação do tamanho efetivo do conjunto de sementes (nova população recombinada) coletadas no "pomar de sementes por mudas" (nova população de recombinação).

Antes e após a seleção, a probabilidade de não reter um alelo com frequência 0,05 em um loco foi baixa para as três populações ( $P < 0,006$ ), isto é, a probabilidade de retenção de alelos raros foi alta (TABELA 7). Esses resultados confirmam que a estratégia adotada para conservar a variabilidade genética dentro dessas três populações de *G. gorarema* foi eficiente e que a seleção dentro de progênies não colocará em risco o principal objetivo deste trabalho, a conservação genética.

#### 4 CONCLUSÕES

1. Foram detectadas variâncias genéticas significativas entre populações e progênies/população para todos os caracteres.
2. Os componentes da variância evidenciaram que a maior parte da variabilidade genética encontra-se distribuída dentro de populações.
3. As correlações genéticas e fenotípicas foram altas entre os caracteres ( $> 0,8$ ), mostrando fortes efeitos pleiotrópicos e que a seleção em um caráter pode capitalizar ganhos indiretos em outro.

4. As estimativas da resposta esperada com a seleção indicaram a possibilidade de ganhos genéticos expressivos via seleção dentro de progênies, sem por em risco a conservação dos recursos genéticos de *G. gorarema*.
5. As estimativas do tamanho efetivo e da probabilidade de retenção de alelos raros dentro das populações revelaram que a estratégia amostral foi eficiente para reter *ex situ* parte do potencial evolutivo da espécie.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos à assistente técnica de pesquisa científica e tecnológica Yara Cristina Marcondes e ao técnico de apoio à pesquisa Carlos Eduardo Sposito pelo excelente trabalho de correção do presente artigo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, A. H. D.; HARDNER, C. M. Sampling the gene pools of forest trees for *ex situ* conservation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Australia: CSIRO Publishing, 2000. p. 185-198.
- BULIUCKAS, V. *et al.* Genetic variation among and within populations of four Swedish hardwood species assessed in a nursery trial. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 48, n. 1, p. 17-25, 1999.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.
- CHRISTOPHE, C.; BIROT, Y. Genetic variation within and between populations of Douglas fir. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 28, n. 5, p. 197-206, 1979.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Harlow: Longman, 1997. 463 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Panel of experts and forest gene resources:** ninth session. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO, 1996. 64 p.

FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution.** Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.

GURGEL GARRIDO, L. M. do A.; RIBAS, C.; GARRIDO, M. A. de O. Variabilidade genética em *Pinus elliottii* Engelm. *elliottii*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 6, p. 113-128, 1994.

\_\_\_\_\_. Variação genética em progênes e procedências de *Pinus caribaea* Mor. var. *bahamensis* Barr. et Golf. para a produção de resina e características de crescimento. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 105-121, 1999.

HAMRICK, J. L. Variation and selection in western montane species II. Variation within and between populations of White Fir on an elevation transect. **Theoretical and Applied Genetic**, Berlin, v. 47, p. 27-34, 1976.

\_\_\_\_\_.; LINHART, Y. B.; MITTON, J. B. Relationships between life history characteristic and electrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Davis, v. 10, p. 173-200, 1979.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A. H. D. *et al.* (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources.** Sunderland: Sinauer Associates, 1990. p. 43-63.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B.; VENCOVSKY, R. Conservação *in situ* de espécies arbóreas nativas. In: NAS, L. L. *et al.* **Recursos genéticos e melhoramento.** Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 149-159.

KEHLET, J.; ROULUND, H. Genetic parameters for spiral grain in two 18-year-old progeny trials with Sitka Spruce in Denmark. **Canadian Journal Forest Research**, Edmonton, v. 28, p. 92-931, 1998.

LI, P. *et al.* Genetic variation in juvenile growth and phenology in a White Spruce provenance-progeny test. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 42, n. 1, p. 52-60, 1993.

MORAES, M. L. T. **Variabilidade genética por isoenzimas e caracteres quantitativos em duas populações naturais de aroeira *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão Anacardiaceae (Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler.** 1993. 139 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

NAMKOONG, G. **Introduction to quantitative genetics in forestry.** Washington, D.C.: Forest Service, 1979. 342 p. (Technical Bulletin, 1588).

OLIVEIRA, S. A. *et al.* Variação genética em progênes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) sob diferentes condições de cultivo. I - Aspectos silviculturais. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 155-166, 2000.

REHFELDT, G. E. Systematics and genetic structure of Washoe Pine: applications in conservation genetics. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 48, p. 167-173, 1999.

S.A.S. INSTITUTE INC. **SAS procedures guide.** Version 8 (TSMO). Cary: SAS Institute Inc., 1999. 454 p.

SEBBENN, A. M. *et al.* Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva - *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 53, p. 31-38, 1998.

SEBBENN, A. M. *et al.* Teste de procedências de *Grevillea robusta* A. Cunn. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 65-73, 1999a.

SEBBENN, A. M. *et al.* Estrutura genética de *Pterogine nitens* Tul. (CAESALPINACEAE) através de caracteres quantitativos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 57, p. 29-40, 1999b.

SEBBENN, A. M. *et al.* Interação genótipo ambiente na conservação *ex situ* de *Peltophorum dubium*, em duas regiões do Estado de São Paulo. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 75-89, 1999c.

SEBBENN, A. M.; SIQUEIRA, A. C. M. De F.; GURGEL GARRIDO, L. M. do A. Interação progênes x locais e variabilidade genética em jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 13-23, 2000.

SEBBENN, A. M.; KAGEYANA, P. Y.; ZANATTO, A. C. S. Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*) por caracteres quantitativos e isoenzimas. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 121-134, 2001.

SIQUEIRA, A. C. M. De F. *et al.* Comportamento silvicultural e genético de duas espécies arbóreas tropicais secundárias. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 53-64, 1999.

SIQUEIRA, A. C. M. De F. *et al.* Distribuição da variação genética entre e dentro de populações de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para a conservação *ex situ*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 89-103, 2000.

VENCOVSKY, R. Effective size of monoecious populations submitted to artificial selection. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 3, p. 181-191, 1978.

VICTOR, M. A. M. **A devastação florestal**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1975. p. 28-32.

ZHENG, Y. O.; ENNOS, R.; WANG, H. R. Provenance variation and genetic parameters in a trial of *Pinus caribaea* Morelet var. *bahamensis* and Golf. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 1, n. 3, p. 165-174, 1994

# SISTEMA DE REPRODUÇÃO E DIVERSIDADE GENÉTICA EM PLANTIO DE *Chorisia speciosa* St. Hil<sup>1</sup>

Andréa Quirino de LUCA<sup>2</sup>  
Alexandre Magno SEBBENN<sup>3</sup>  
Paulo Yoshio KAGEYAMA<sup>2</sup>  
Marcílio de ALMEIDA<sup>4</sup>

## RESUMO

## ABSTRACT

Em programas de reflorestamentos ambientais é fundamental conhecer o potencial genético regenerativo das espécies que os compõem, visto que, é este que vai permitir que a espécie se adapte e siga seu curso evolucionário. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial genético regenerativo de um plantio de *Chorisia speciosa* localizado no município de Iracenópolis-SP. O plantio incluía 120 espécies arbóreas com 14 anos de idade e ocupava 20 ha. *C. speciosa* estava representada no plantio por 52 exemplares, de procedência desconhecida. Para a caracterização da taxa de cruzamento e diversidade genética foram amostradas progênies de polinização aberta em 10 árvores, coletando-se 10 sementes por árvore. A taxa de cruzamento multilocus estimada foi de  $0,975 \pm 0,033$  indicando a espécie como alógama. O teste de homogeneidade nas frequências alélicas do pólen e dos óvulos e a correlação de paternidade ( $r^p = 0,334 \pm 0,102$ ) revelaram que os cruzamentos não foram aleatórios, sendo as progênies constituídas por misturas de meios-irmãos e irmãos-completos. A diferença entre a taxa de cruzamento multilocus e unilocus sugeriu que ocorreram cruzamentos entre indivíduos aparentados, na ordem de  $\hat{a} = 5,5\%$ . O índice de fixação dentro da população ( $F$ ) foi menor nos adultos ( $0,002 \pm 0,001$ ) em relação às progênies ( $0,129 \pm 0,198$ ), mostrando a possibilidade de ocorrência de seleção contra homozigotos. A magnitude do valor de  $F$  nas progênies indica, na média, que as árvores do plantio são aparentadas no grau de meios-irmãos. A estimativa do tamanho efetivo ( $N_e$ ) a partir da heterozigosidade na geração parental e nas progênies reforça a idéia de que o plantio foi estabelecido com sementes coletadas de poucas árvores, na qual os cruzamentos não ocorreram de forma aleatória, sendo as plantas misturas de meios-irmãos e irmãos-completos.

Environmental reforestation programs require the knowledge of the species genetic potential since this allows their adaptation and evolutionary course. This paper aims to evaluate the regenerative genetic potential of a species, *Chorisia speciosa*, established in Iracenópolis, São Paulo State. The plantation was composed by 120 fourteen-years-old trees occupying an area of 20 ha, being *C. speciosa* represented by 52 trees of an unknown provenance. In order to characterize the outcrossing rate and genetic diversity, samples of open-pollinated progenies were sampled in 10 trees, by collecting 10 seeds per tree. The mean multilocus outcrossing rate ( $0,975 \pm 0,033$ ) was high, characterizing the species as allogamous. Test of homogeneity in ovules and pollen allele frequencies and correlation of outcrossed paternity ( $r^p = 0,334 \pm 0,102$ ) have shown that outcrossing were not carried out at random, being the families composed by mixture of half-sibs and full-sibs. The differences among multilocus outcrossing rate and single locus outcrossing rate has suggested that there was mating among relatives (5.5%). The fixation index within population ( $F$ ) was smaller in adults ( $0,002 \pm 0,001$ ) in relation to the families ( $0,129 \pm 0,198$ ), showing the possibility of selection occurrence against homozigotes. An  $F$  of 0.129 suggests that the parents of the present generation were related on average as half-sibs. The effective population size ( $N_e$ ) estimated from heterozygosity reduction between families and parental generation showed the plantation was established for seed collected from only a tree, where the outcrossing have not taken place randomly, being the families mixture of half-sibs and full-sibs.

Palavras-chave: plantio de recuperação; regeneração; tamanho efetivo populacional; eletroforese de isoenzimas.

Key words: recuperation planting; regeneration; effective population size; isozymes electrophoresis.

(1) Aceito para publicação em outubro de 2002.

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

(3) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

(4) ESALQ/USP, Departamento de Botânica, Av. Pádua Dias, 15, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

A falta de informações sobre a importância do tamanho efetivo na coleta de sementes de espécies arbóreas para a recuperação de áreas degradadas e alteradas resultou, no passado, no fato de que essas sementes fossem coletadas de uma ou poucas árvores. Com o desenvolvimento de modelos genético-estatísticos para descrever os efeitos da deriva genética em populações pequenas, atualmente sabe-se da importância da utilização de grandes tamanhos efetivos para que as populações não se degenerem em poucas gerações. Vencovsky (1987) advogou a coleta de sementes em quantidades iguais por árvore matriz (controle gamético materno), retiradas do maior número possível de árvores.

A avaliação do sistema de reprodução de uma espécie é importante para delinear estratégias de amostragem para a conservação, melhoramento genético, coleta de sementes e estudar o potencial regenerativo de uma floresta. No último caso, a avaliação do sistema de reprodução combinada com informações da diversidade genética na geração parental e suas progênies pode trazer importantes esclarecimentos e diretrizes para futuros programas de recuperação de áreas degradadas e alteradas.

Este trabalho visa avaliar o sistema de reprodução e a diversidade genética de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae) em um plantio de recuperação. *C. speciosa* é uma espécie de grande porte e ampla distribuição geográfica. Sua área de ocorrência é a Floresta Mesófila Semidecídua, entre as latitudes 12°S a 30°S, na Argentina, Paraguai e Brasil. A espécie é classificada como secundária tardia de crescimento moderado a rápido, estabelecendo-se a pleno sol e tolerando sombreamento no estágio de plântula (Carvalho, 1994). As flores são hermafroditas, o fruto é uma cápsula oblonga, deiscente, tendo sementes oleaginosas, envoltas por pêlos (paina), que auxiliam a dispersão pelo vento. Em plantios, o florescimento e frutificação iniciam-se entre cinco e oito anos de idade (Carvalho, 1994). Os prováveis polinizadores são as borboletas (Castillo, 1986), os morcegos e os beija-flores (Morellato, 1991). A dispersão de sementes é anemocórica, atingindo distâncias superiores a 160 m, porém a maior densidade de sementes é observada nas vizinhanças da matriz (Castillo, 1986).

O objetivo deste estudo foi avaliar o sistema de reprodução e diversidade genética intrapopulacional em um plantio de recuperação de *C. speciosa*. Com base nessas informações avaliou-se, também, o potencial genético-regenerativo do plantio.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostragem

Para caracterizar a taxa de cruzamento de *C. speciosa* foram amostradas progênies de polinização aberta em 10 árvores de um plantio misto com 120 espécies, em uma área de 20 hectares, localizado no município de Iracenópolis-SP (22°36'S e 47°33'W). O clima do local é Cwa (Koeppen, 1948), o índice pluviométrico de 1.700 mm anuais, o relevo possui inclinação de 16% e a altitude é de 640 m. O plantio foi estabelecido nos anos de 1988 e 1989. As mudas foram produzidas em sacos de polietileno. Tecidos foliares, de aproximadamente 10 plântulas por progênies, foram avaliados por eletroforese de isoenzimas no Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas (LARGEA) do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP. A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%. As "corridas" foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C, mantendo-se a corrente elétrica constante nos eletrodos. O tampão de cuba e gel foi o Citrato Morfolina (CM, pH 6.1 - Clayton & Tretiak, 1972). As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de plântulas com cinco meses de idade, empregando-se aproximadamente 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona PVP-40, 7 mg de PVP-60 e 200 microlitros da solução de extração número 1 de Alfenas (1998), alterada por Souza (1997). As isoenzimas reveladas foram: Fosfoglucoase Isomerase (PGI), Malato Desidrogenase (MDH), Xiquimato Desidrogenase (SKDH) e Leucina Aminopeptidase (LAP). As revelações das isoenzimas foram efetuadas de acordo com Alfenas (1998).

## 2.2 Análise Estatística

O sistema de reprodução foi analisado com base no modelo de cruzamento misto de Ritland & Jain (1981), com o auxílio do programa "Multilocus MLTR" de Ritland (1997)\*. Estimou-se a taxa de cruzamento multilocus ( $\hat{t}_m$ ), a taxa de cruzamento unilocus ( $\hat{t}_s$ ), a taxa de cruzamento entre aparentados ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ), a taxa de cruzamento individual por árvore materna, as frequências alélicas dos óvulos e do pólen ( $o$  e  $p$ ), a correlação de autofecundação ( $\hat{r}_s$ ) e a correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ). Os genótipos maternos foram estimado a partir das progênies, pelo método do parental materno mais provável (Ritland, 1990). O erro padrão da média de  $\hat{t}_m$ ,  $\hat{t}_s$ ,  $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ,  $\hat{r}_s$ ,  $\hat{r}_p$ ,  $o$  e  $p$ , foi estimado a partir de 1.000 reamostragens *bootstrap*, onde a unidade de amostragem foi as plantas dentro das progênies para a taxa de cruzamento individual por árvore materna e progênies para taxa de cruzamento média da população.

O teste de cruzamentos aleatórios foi realizado pelo teste de homogeneidade das frequências alélicas dos óvulos e do pólen, a partir da estimativa  $\hat{F}_{ST}$  de Wright (1965). A significância de  $\hat{F}_{ST}$ , para cada loco, foi obtida pelo teste de qui-quadrado  $\chi^2 = 2n\hat{F}_{ST}(k-1)$ , GL =  $(k-1)(s-1)$ , proposto por Workman & Niswander (1970), em que,  $n$  é o número de gametas nos dois grupos (pólen e óvulos),  $k$  é o número de alelos e  $s$  é o número de grupos (2 - pólen e óvulo).

A estrutura genética das progênies foi avaliada por análise da variância de frequências gênicas, com base em Weir (1996). O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = m + f_i + b_{j(i)} + g_{k(ij)},$$

em que:  $Y_{ijk}$  = frequência do alelo  $k$ , no indivíduo  $j$ , na progênie  $i$ ;  $m$  = média geral das frequências alélicas;  $f_i$  = efeito da progênie  $i$ , com  $i = 1, 2, \dots, a$ ;  $b_{j(i)}$  = efeito do indivíduo  $j$ , na progênie  $i$ , com  $j = 1, 2, \dots, b_i$ ;  $g_{k(ij)}$  = efeito do alelo  $k$ , no indivíduo  $j$ , na progênie  $i$ , com  $k = 1, 2, \dots, n_{ij}$ .

Ainda,  $a$  = número de progênies;  $b_i$  = número de indivíduos por progênie;  $n_{ij}$  = número de alelos em cada indivíduo dentro de cada progênie. Os parâmetros genéticos foram estimados dos componentes da variância da seguinte forma:

$$\hat{\theta}_F = \frac{\hat{\sigma}_F^2}{\hat{\sigma}_T^2}; \hat{F} = 1 - \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_T^2}; \hat{f} = \frac{\hat{F} - \hat{\theta}_F}{1 - \hat{\theta}_F},$$

sendo:  $\hat{\theta}_F$  = divergência genética entre progênies ou coeficiente de coancestralidade entre plantas dentro de progênies;  $\hat{F}$  = índice de fixação para o conjunto das progênies;  $\hat{f}$  = índice de fixação médio dentro das progênies;  $\hat{\sigma}_F^2$  = variância genética entre progênies;  $\hat{\sigma}_G^2$  = variância entre genes dentro de indivíduos dentro de progênies;  $\hat{\sigma}_T^2$  = variância total. Para testar se as estimativas  $\hat{\theta}_F$ ,  $\hat{F}$  e  $\hat{f}$  eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade por reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 repetições sobre os locos. As análises de variâncias, descritas acima e os *bootstraps* foram obtidos pelo programa GDA (Lewis & Zaykin, 1999).

A diversidade genética intrapopulacional foi analisada pelos índices de diversidade genética, estimados a partir do programa BIOSYS-1 (Swofford & Selander, 1989). A heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) para cada loco foi obtida por  $\hat{H}_o = 1 - \sum P_{ii}$ , em que:  $P_{ii}$  = frequência dos genótipos homozigotos. A heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada loco foi obtida segundo Nei (1977) por:  $\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$ , em que:  $p_i$  = frequência alélica estimada do  $i$ -ésimo alelo. A estimativa média de  $\hat{H}_o$  e  $\hat{H}_e$  foi obtida pela média aritmética dos locos. A porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ) foi estimada pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos (monomórficos + polimórficos), sendo que um loco foi considerado polimórfico quando a frequência do alelo mais comum não ultrapassava 95% (Nei, 1987).

(\*) RITLAND, K. Multilocus mating system program MLTR: version 1.1. Canada: University of Toronto, 1997. (Não publicado).

O número médio de alelos por locos ( $\hat{A}$ ) foi obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos. O índice de fixação não viesado ( $\hat{F}$ ) foi estimado de acordo com Weir (1996):

$$\hat{F} = \frac{(\hat{H}_c - \hat{H}_o) + \frac{2}{2n} \hat{H}_o}{\hat{H}_c - \frac{1}{2n} \hat{H}_o}$$

Para verificar se os valores médios de  $\hat{F}$  eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade pelo método de reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 reamostragens sobre os locos, usando-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 1999).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Sistema de Reprodução

O teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para a divergência genética entre as frequências alélicas dos óvulos e do pólen foi significativo para quatro

dos cinco locos avaliados, sugerindo que a distribuição do pólen não foi homogênea para os cruzamentos individuais, indicando a ocorrência de cruzamentos biparentais (TABELA 1). A heterogeneidade nas frequências alélicas dos óvulos e do pólen pode ter sido causada pelo assincronismo no florescimento, estruturação intrapopulacional, imigração de pólen de outras populações, seleção para os locos isoenzimáticos e amostragem não representativa das árvores maternas. Uma das pressuposições do modelo de cruzamento misto é que as frequências alélicas do óvulo e do pólen sejam homogêneas (Ritland & Jain, 1981). Violações dessa pressuposição afetam as estimativas da taxa de cruzamento individual, mas têm pouco efeito sobre a estimativa populacional ( $\hat{f}_m$ ), quando um número suficiente de locos polimórficos é usado, como por exemplo, quatro ou cinco locos (Ritland & Jain, 1981). Como foram utilizados cinco locos polimórficos, acredita-se que as estimativas obtidas sejam robustas.

TABELA 1 - Divergência genética entre frequências alélicas dos óvulos e do pólen ( $\hat{F}_{ST}$ ) e teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) em plantio de *C. speciosa*.

Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	$\hat{F}_{ST}$	$\chi^2$
Pgi-1	1	0,468 (0,058)	0,650 (0,043)	0,207	37,30** [2]
	2	0,297 (0,046)	0,300 (0,043)		
	3	0,236 (0,073)	0,050 (0,039)		
Pgi-2	1	0,378 (0,048)	0,500 (0,101)	0,223	40,11** [2]
	2	0,853 (0,047)	0,350 (0,078)		
	3	0,039 (0,024)	0,150 (0,067)		
Mdh-1	1	0,859 (0,059)	0,500 (0,153)	0,592	52,67** [1]
	2	0,141 (0,059)	0,500 (0,153)		
Skdh-1	1	0,760 (0,043)	0,762 (0,075)	0,019	2,16 [2]
	2	0,223 (0,046)	0,190 (0,074)		
	3	0,018 (0,010)	0,048 (0,003)		
Lap-1	1	0,534 (0,070)	0,529 (0,051)	0,044	7,69** [2]
	2	0,381 (0,066)	0,441 (0,056)		
	3	0,085 (0,012)	0,029 (0,020)		

(\*\*)  $P \leq 0,01$ .

( ) Erro padrão da média.

[ ] Graus de liberdade.

A taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m$ ) foi alta para a população ( $0,975 \pm 0,033$ ) e a julgar pelo erro padrão da média, não pode ser considerada diferente de 1,0 (TABELA 2). Em concordância, Souza *et al.* (2003) detectaram taxa alta de cruzamento multilocos ( $0,816 \pm 0,040$ ), em 28 progênies de *C. speciosa*, em uma população natural, confirmando a predominância de alogamia na espécie. Diferenças positivas entre a taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m$ ) e unilocos ( $\hat{t}_s$ ) indicam

cruzamentos entre aparentados (Ritland, 1990). A diferença  $\hat{t}_m - \hat{t}_s$  (0,055) foi significativa, a julgar pelo erro padrão da média ( $\pm 0,028$ ). Isto significa que existe parentesco dentro do plantio, o que por sua vez, sugere que as sementes foram coletadas de poucas árvores. Na época do plantio (1988/1989) existiam poucos cuidados com a origem das sementes, em termos de controle gamético e número mínimo de árvores para a coleta de sementes.

TABELA 2 - Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em plantio de *C. speciosa*.

Taxa de Cruzamento	Estimativa
Progênie 1	1,00 (0,02)
Progênie 2	0,84 (0,16)
Progênie 3	0,54 (0,23)
Progênie 4	1,00 (0,00)
Progênie 5	1,00 (0,00)
Progênie 6	0,87 (0,18)
Progênie 7	0,69 (0,16)
Progênie 8	1,00 (0,00)
Progênie 9	0,83 (0,16)
Progênie 10	0,39 (0,21)
Taxa de cruzamento unilocos ( $\hat{t}_s$ )	0,920 (0,043)
Taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m$ )	0,975 (0,033)
Entre aparentados ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ )	0,055 (0,028)
Correlação de autofecundação ( $\hat{r}_s$ )	0,084 (0,019)
Correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ )	0,334 (0,102)
Índice de fixação dos parentais ( $\hat{F}_p$ )	0,002 (0,001)
Índice de fixação das progênies ( $\hat{F}$ )	0,129 (0,198)
Coancestria dentro de progênies ( $\hat{\theta}_m$ )	0,153 (0,092)

( ) Erro padrão da média.

A taxa de cruzamento individual por árvore materna foi alta para quase todas as progênies (TABELA 2). Apenas a estimativa obtida para a progênie 10 pode ser considerada como diferente de 1,0, de acordo com o erro padrão da média. As progênies 1, 4, 5 e 8 apresentaram taxa de cruzamento igual a 1,0 e as progênies 2, 3, 6, 7 e 9, a julgar pelo erro padrão da média, não podem ser consideradas como diferentes de 1,0. A alta taxa de cruzamento individual por árvore materna reforça que a espécie é alógama.

A correlação de autofecundação ( $\hat{r}_y$ ) foi baixa, mas significativamente diferente de zero ( $0,084 \pm 0,019$ ), revelando que não existem grandes diferenças na taxa de autofecundação entre as árvores (TABELA 2). A correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ) foi alta e estatisticamente diferente de zero ( $0,334 \pm 0,102$ ), indicando alta proporção de cruzamentos biparentais e que a relação de parentesco dentro das progênies, mistura, além de irmãos de autofecundação, meios-irmãos e irmãos-completos. Da mesma forma, a estimativa do coeficiente de coancestralidade dentro de progênies ( $\hat{\theta}_m = 0,153 \pm 0,092$ ) foi superior ao esperado em progênies de meios-irmãos (0,125). Valores de  $\hat{\theta}_m$  maiores que 0,125 indicam a presença de irmãos-completos e/ou irmãos de autofecundação nas progênies. A mistura de progênies de irmãos-completos e meios-irmãos aumenta o parentesco médio dentro das progênies e reduz o tamanho efetivo populacional. O tamanho efetivo máximo de uma progênie de irmãos-completos de tamanho infinito ( $> 1.000$  indivíduos) é 2,0 e de meios-irmãos é 4,0. A mistura de ambos reduz o tamanho efetivo para valores intermediários entre 2,0 e 4,0. A redução no tamanho efetivo, pelo aumento do parentesco dentro das progênies, aumenta a probabilidade de indivíduos aparentados estabelecerem-se no plantio, durante o processo de regeneração.

O índice de fixação ou coeficiente de endogamia estimado para a geração parental ( $\hat{F}_p$ ) foi baixo para o plantio ( $0,002 \pm 0,001$ ), sugerindo ausência de endogamia. Já o índice de fixação estimado para as progênies ( $\hat{F}$ ) foi alto ( $0,129 \pm 0,198$ ), mas de acordo com o erro padrão, não foi diferente de zero. Apesar do índice de fixação das progênies não ser

estatisticamente diferente de zero, sua magnitude, comparada ao observado na geração parental sugere seleção contra homocigotos. Resultados semelhantes foram observados por Sebbenn *et al.* (2000a; 2000b) para *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. e *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A.P. de Candolle, respectivamente, Souza (1997) para *C. speciosa* e Ledig *et al.* (2001) para *Pinus maximartinezii* R., entre outros.

Um índice  $\hat{F}$  de 0,129 sugere que os parentais da presente geração (progênies) eram na média meios-irmãos. Em equilíbrio de endogamia, o coeficiente de endogamia da descendência é a metade do coeficiente de parentesco dos parentais e o coeficiente de parentesco de meios-irmãos é 0,25 (Ledig *et al.*, 2001). Como não se conhece qual o número real de árvores em que as sementes foram coletadas, este resultado sugere que as sementes tenham sido coletadas de uma única matriz.

### 3.2 Diversidade Genética

Os níveis de diversidade genética foram altos para a espécie (TABELA 3). A porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ) foi de, no mínimo, 92% e o número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) variou de 2,18 a 2,4. A heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) foi de 0,420 e a heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) em Equilíbrio de Hardy-Weinberg de, no mínimo, 0,402. Souza (1997) estudando populações naturais de *C. speciosa* encontrou para o índice  $\hat{P}$ ,  $\hat{A}$ ,  $\hat{H}_o$  e  $\hat{H}_e$  valores, em geral, inferiores aos aqui reportados (77,8%, 2,2, 0,202 e 0,266, respectivamente). Contudo, Souza (1997) amostrou um número maior de locos (sete) e de indivíduos (53 árvores adultas e 28 progênies), o que pode ter influenciado os resultados. Outra explicação pode ser a origem das populações. As populações aqui estudadas e as estudadas por Souza (1997) podem ter diferentes padrões de diversidade genética por se tratarem de populações diferentes e isoladas entre si. Assim, as diferenças entre as populações poderiam ser atribuídas à deriva genética. Por outro lado, ambos os estudos observaram redução nos índices de diversidade entre árvores adultas e progênies.

TABELA 3 - Índices de diversidade genética em árvores adultas e progênes de *C. speciosa*.

Índices	Árvores maternas	Progênes
$n$	10	83
$\hat{P}$ (95%)	100%	92%
$\hat{A}$	2,4	2,18
$\hat{H}_o$	0,520 (0,103)	0,420 (0,031)
$\hat{H}_e$	0,506 (0,069)	0,402 (0,023)

( ) Erro padrão da média.

Sendo:  $n$  = tamanho da amostra;  $\hat{P}$  (95%) = porcentagem de locos polimórficos a 95% de probabilidade;  $\hat{A}$  = número médio de alelos por loco;  $\hat{H}_o$  = heterozigidade observada;  $\hat{H}_e$  = heterozigidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As árvores maternas apresentaram maiores níveis de diversidade genética do que suas progênes. A porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}$ ), o número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) e as heterozigidades ( $\hat{H}_o$  e  $\hat{H}_e$ ) foram maiores nas árvores maternas que nas progênes. As heterozigidades reduziram em aproximadamente 20%. Souza (1997) observou menor redução nas heterozigidades, em população natural. A autora observou 17,5% de redução para  $\hat{H}_o$  e 6,3% para  $\hat{H}_e$ . Os cruzamentos biparentais, os cruzamentos entre indivíduos aparentados no grau de meios-irmãos e/ou autofecundações podem explicar, em parte, essa redução. Uma grande parte das progênes (33,4%) foi produzida por cruzamentos biparentais. A taxa de cruzamento entre aparentados foi de 5,5%, a de autofecundação de 2,5% e há fortes indícios de que os indivíduos no plantio sejam meios-irmãos. Os cruzamentos biparentais, entre aparentados e autofecundações, reduzem o número de recombinações em comparação a cruzamentos aleatórios. Outra causa pode ser a base genética restrita no plantio (árvores maternas). A regeneração do plantio a partir de progênes oriundas do cruzamento entre meios-irmãos pode elevar a endogamia e o parentesco nas próximas gerações, com a conseqüente redução da diversidade genética em poucas gerações.

### 3.3 Considerações Finais

Apesar da alta taxa de cruzamento e índices de diversidade, o potencial do plantio para a regeneração é restrito. A ausência de informações sobre a origem das sementes, combinada com evidências de forte parentesco intrapopulacional (meios-irmãos), cruzamentos biparentais (irmãos-completos) e altos níveis de endogamia indicam a possibilidade de redução no potencial regenerativo do plantio, pelo aumento do parentesco e endogamia e conseqüente depressão por endogamia.

Para avaliar o potencial regenerativo de *C. speciosa* no plantio é necessário conhecer seu tamanho efetivo populacional ( $\hat{N}_e$ ). O tamanho efetivo na geração parental pode ser determinado a partir da taxa de perda de heterozigidade por deriva genética entre gerações, em espécies hermafroditas, sem sobreposição de gerações,  $N_e = H_{(0)} / 2(H_{(0)} - H_{(1)})$  (Crow & Kimura, 1970). Substituindo-se as heterozigidades nessa expressão e estimando-se o valor de  $\hat{N}_e$ , que pode ter gerado a redução observada de 20%, chega-se ao valor de 2,6 [ $\hat{N}_e = 0,520/2(0,520-0,420)$ ] para  $\hat{H}_o$  e 2,43 [ $\hat{N}_e = 0,506/2(0,506-0,402)$ ] para  $\hat{H}_e$ . Um tamanho efetivo de 2,43 a 2,6 está próximo ao esperado em progênes de irmãos-completos originados de uma árvore (2,0).

Por outro lado, calculando-se o tamanho efetivo com base nos valores máximos e mínimos dos erros-padrões de  $\hat{H}_o$  e  $\hat{H}_e$  na geração parental e nas progênes, estima-se que o  $\hat{N}_e$  pode estar entre 1,3 a 7,4 para  $\hat{H}_o$  e 1,5 a 18,2 para  $\hat{H}_e$ . Os tamanhos efetivos de 7,4 e 18,2 poderiam ser obtidos pela coleta de sementes em duas e cinco árvores, respectivamente. Portanto, o plantio pode ter-se originado de sementes coletadas de no máximo cinco árvores. Em termos médios, os resultados indicam que a coleta foi realizada em apenas uma árvore, na qual os cruzamentos não ocorreram de forma aleatória, sendo o presente plantio constituído de misturas de meios-irmãos e irmãos-completos. A regeneração do plantio, a partir de sementes de seus próprios cruzamentos, pode reduzir a diversidade genética nas futuras gerações pelo aumento do parentesco interno causado pela base genética restrita na população parental e sobreposição de gerações. O aumento do parentesco pode reduzir a capacidade de regeneração da população fundada, a não ser que seu tamanho seja aumentado. A introdução de novos exemplares não endogâmicos, por exemplo, 100, oriundos de uma ou várias populações grandes (> 150 indivíduos) e coletados de pelo menos 25 árvores matrizes (Graudal *et al.*, 1997), pode melhorar o potencial genético evolutivo do plantio. A coleta de sementes para a recuperação de áreas degradadas e alteradas deve seguir as recomendações de Vencovsky (1987), ou seja, durante o processo de coleta deve-se procurar retirar sementes do maior número possível de árvores, procedendo-se ao controle gamético feminino.

#### 4 CONCLUSÕES

1. A estimativa da taxa de cruzamento multilocos revelou a espécie como predominantemente de cruzamento.
2. O teste de homogeneidade nas frequências do alélicas do pólen e dos óvulos e a correlação de paternidade mostraram que os cruzamentos não foram aleatórios, sendo as progênes constituídas por misturas de irmãos-completos e meios-irmãos.
3. A diferença entre a taxa de cruzamento multilocos e unilocos sugeriu que ocorreram cruzamentos entre indivíduos aparentados.
4. O índice de fixação foi menor nos adultos em relação às progênes, possivelmente devido à seleção contra homozigotos.
5. A magnitude do índice de fixação nas progênes sugeriu que seus parentais eram aparentados no grau de meios-irmãos.
6. A estimativa do tamanho efetivo a partir da redução nas heterozigidades entre os parentais e suas progênes sugere que o plantio foi estabelecido com sementes coletadas de, no máximo, cinco árvores, nas quais os cruzamentos não ocorreram de forma aleatória, sendo as plantas provavelmente misturas de meios-irmãos e irmãos-completos.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à técnica de laboratório Maria Andréia Moreno pela eletroforese de isoenzimas e ao agente de apoio a pesquisa Edi Carvalho Pereira da Estação Experimental de Tupi, pela revisão do texto em língua inglesa.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, S. A. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira.** Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.
- CASTILLO, C. A. R. **Dispersão anemocórica das sementes de paineira (*Chorisia speciosa* St. Hil.) na região de Bauru, Estado de São Paulo.** 1986. 89 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- CLAYTON, J.; TRETIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **Journal Fisheries Research Board Canadian**, Edmonton, v. 29, p. 1169-72, 1972.

LUCA, A. Q. de *et al.* Sistema de reprodução e diversidade genética em plantio de *Chorisia speciosa* St. Hil.

CROW, J. F.; KIMURA, M. A. **An introduction to population genetics theory.** London: Harper & Row, 1970. 591 p.

FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution.** Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.

GRAUDAL, L. *et al.* **Planning national programmes for conservation of forest genetic resources.** Humlebaek: Danish International Development Agency - DANIDA, Forest Seed Centre, 1997. 58 p. (Technical Note, 48).

KOEPPEN, W. Las zonas de clima. In: KOEPPEN, W. **Climatologia.** México: Fundo de Cultura Econômica, 1948. p. 145-227.

LEDIG, F. T. *et al.* Genetic diversity and the mating system of a rare Mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, San Francisco, v. 88, n. 11, p. 1977-1987, 2001.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic date analysis:** version 1.0 (d12) for Windows 3.1. Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 89 p.

NEI, M. F-statistic and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annual Human Genetics**, London, v. 41, p. 225-33, 1977.

\_\_\_\_\_. **Molecular evolutionary genetics.** New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.

MORELLATO, L. P. C. **Estudo da fenologia de árvores e lianas de uma floresta semidecídua no Sudoeste do Brasil.** 1991. 176 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

RITLAND, K. Series of FORTRAN: computer programs for estimating plant mating systems. **Journal of Heredity**, London, v. 81, p. 235-237, 1990.

SEBBENN, A. M. *et al.* Efeitos do manejo florestal sobre a estrutura genética de Caixeta - *Tabebuia cassinoides*, no Vale do Ribeira, SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 127-143, 2000a.

SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *C. legalis* (Mart.) O. Ktze. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 25-40, 2000b.

SOUZA, L. M. I. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP)-Brasil.** 1997. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

\_\_\_\_\_.; SEBBENN, A. S.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de produção em *Chorisia speciosa*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, 2003. 20 p. (Submetido).

SWOFFORD, D. L.; SELANDER, R. B. BIOSYS-1. A FORTRAN computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. **Journal of Heredity**, London, v. 72, p. 282-283, 1989.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, 1987.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis. II. Methods for discrete population genetic data.** Sunderland: North Carolina State University, Sinauer Associates, 1996. 445 p.

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

WORKMAN, P.; NISWANDER, J. L. Population studies on southwestern Indian Tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal Human Genetic**, Chicago, v. 22, p. 24-49, 1970.



# NÚMERO DE ÁRVORES MATRIZES E CONCEITOS GENÉTICOS NA COLETA DE SEMENTES PARA REFLORESTAMENTOS COM ESPÉCIES NATIVAS\*

Alexandre Magno Sebbenn\*\*

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo discutir conceitos relacionados ao sistema de reprodução e à genética de populações de espécies arbóreas e suas implicações nas atividades de coleta de sementes para reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas. Com base nesses conceitos e no tamanho efetivo populacional, estimado para dados publicados com espécies arbóreas, procurou-se fazer recomendações sobre o número de árvores necessárias para a coleta de sementes. Como referência, foram usados valores de tamanhos efetivos citados na literatura como adequados para conservação da variabilidade genética em uma simples população. A coleta de grande número de sementes por árvore matriz é preferível a poucas sementes. Recomenda-se coletar sementes em 25 árvores, para o reflorestamento de áreas menores do que 100 hectares, em populações naturais não endogâmicas e em 30 árvores, em populações com indícios de endogamia. Essas árvores podem estar localizadas em um ou mais fragmentos próximos ao local de plantio. O reflorestamento de áreas entre 100 e 500 hectares deve ser realizado a partir da coleta de sementes em 40 e 50 árvores localizadas preferencialmente em mais de um fragmento ou populações da região de plantio. O reflorestamento de áreas superiores a 500 hectares deve ser estabelecido com a coleta de sementes entre 400 a 500 árvores localizadas, obrigatoriamente, em vários fragmentos e ecorregiões de distribuição da espécie alvo.

Palavras-chave: coleta de sementes; número de árvores matrizes; deriva genética; tamanho efetivo populacional, recuperação de áreas alteradas e degradadas.

## 1 INTRODUÇÃO

Em programas de reflorestamento, utilizando espécies nativas, um ponto fundamental é a origem genética das sementes. A origem ou procedência, número de matrizes, número de sementes coletadas e a contribuição gamética têm papel central no sucesso dos programas. A recuperação de áreas depende, em parte, do potencial genético do material utilizado no reflorestamento. Testes de procedências e progênesis vêm há décadas demonstrando que a capacidade de uma espécie em se adaptar a um novo ambiente, depende da variabilidade genética existente entre e dentro das procedências e das características edafoclimática

## ABSTRACT

This work purpose was to discuss genetic concepts related to mating system and genetic population of tree species and their implications toward seed collecting activities for environmental reforestation. Based upon these concepts and effective population size estimated according to available data for tree species, recommendations were made out concerning to the number of trees required to seed collecting. The effective size quoted in the literature as an adequate one for keeping the genetic variability in a single population was used as reference. Rather than collecting only few seeds, a great number of seed collected from mother tree is recommended. For the reforestation of areas smaller than 100 hectares, 25 is the number of trees recommended to have their seeds collected, if the natural population is not inbreed and 30 trees if the populations are inbreed. These trees can be located in one or more fragments near the planting site. Reforestation of areas between 100 and 500 hectares must be carried out from seed collected from 40 to 50 trees, located preferentially in one more fragments or populations in the region of the planting site. As for reforestation in areas greater than 500 hectares it must be established by seed collecting from 400 to 500 tree located necessarily in several fragments in the geographic distribution of the target species.

Key words: seed collecting; number of mother trees; sampling of tree species; genetic drift; effective population size.

e geográfica de origem das sementes e dos locais de plantio. A utilização de material genético de ampla base, coletado em áreas próximas aos locais de reflorestamento, é uma alternativa que pode aumentar a probabilidade de sucesso no estabelecimento do plantio. A utilização de material adaptado à região de plantio pode reduzir a mortalidade e os custos de coleta. Por outro lado, a utilização de sementes coletadas de uma ou poucas árvores pode causar o que se conhece por "gargalo genético", levando à fundação de populações sujeitas aos efeitos da deriva genética, como alterações nas frequências alélicas, perda e fixação de alelos, redução na heterozigiosidade e aumento nos níveis de endogamia.

(\*) Aceito para publicação em novembro de 2002.

(\*\*) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

A utilização de sementes de ampla base genética em reflorestamentos não garante obrigatoriamente a sobrevivência de todas as plantas até a fase reprodutiva. Fatores evolutivos determinísticos como seleção natural, e dispersivos como deriva genética, são prováveis de atuarem em alguma fase de vida das plantas, eliminando parte da população e moldando-a para um ótimo adaptativo (Hedrick, 1999). Indivíduos não adaptados ao ambiente ou portadores de genes recessivos deletérios (letais e semiletais) serão provavelmente eliminados nas fases iniciais do plantio. Contudo, a base ampla aumenta a chance de parte do material se estabelecer. A parte da variabilidade genética não adaptada a um ambiente particular pode ter vantagens adaptativas em outros ambientes. A capacidade de adaptação de uma população ou grupos de indivíduos a um novo ambiente é função das frequências dos alelos que conferem valor adaptativo ao ambiente e da intensidade de seleção atuando contra a permanência destes alelos na população (Crow & Kimura, 1970).

A coleta de sementes para reflorestamentos ambientais requer a retirada de amostras representativas da variabilidade genética de uma ou várias populações, a fim de evitar endogamia nas futuras gerações e conservar o potencial evolutivo das espécies. Deseja-se que os plantios, depois de estabelecidos, mantenham-se por tempo indefinido a partir de sementes originadas dos cruzamentos dos próprios indivíduos da população fundada (plantio). Pequenos tamanhos amostrais podem sofrer a perda de alelos raros por deriva genética, sendo esta perda tanto maior quanto menor for o tamanho amostral (Nei, 1975). Alelos raros podem contribuir para a adaptação em condições de estresse ambiental, ou alterações bruscas do ambiente (Krusche & Geburek, 1991). Por exemplo, se uma população é submetida a uma forte pressão de seleção pelo ataque de uma praga ou pela mudança brusca de clima ou, ainda, pelo excesso de poluição, é possível que pequena parte da população sobreviva por conter alelos raros que conferem resistência a estes fatores. A base genética restrita, aliada à perda de alelos que possam, futuramente, ter valor adaptativo pode reduzir as chances de sucesso na auto-regeneração pelo aumento da endogamia e coancestria da população fundada, tendo como conseqüência a depressão por endogamia.

Em espécies arbóreas esses efeitos podem ser incrementados pela sobreposição de gerações. Assim, para garantir um mínimo de variabilidade genética nos plantios é necessário coletar sementes em um número adequado de árvores.

O conhecimento do sistema de reprodução das espécies é de fundamental importância quando se pensa em coletar sementes de polinização livre, dado que este é o responsável pela transferência das informações genéticas de uma geração para outra. Bawa *et al.* (1985) observaram, nas florestas tropicais da América Central, que aproximadamente 65% das espécies eram hermafroditas com flores bissexuais, 11% eram monóicas com flores masculinas e femininas em cada planta e 23% eram dióicas com flores masculinas e femininas em plantas separadas, unissexuais. Também foi observado que muitas das espécies com flores bissexuais eram auto-incompatíveis, mas, em muitas dessas, as barreiras para auto-incompatibilidade eram fracas e existia a possibilidade de ocorrer autofecundação em alguma fase do florescimento (Bawa, 1974, Bawa *et al.*, 1985). Estimativas da taxa de cruzamento média em espécies arbóreas aproximam-se de 0,8, com tendência a maiores valores. Em espécies arbóreas tropicais, os mais baixos valores foram observados em *Cavallinesia platanifolia* (variando de 0,213 a 0,569) e *Ceiba pentandra* (0,689) na Ilha de Barro Colorado (Murawski & Hamrick, 1991). Em espécies arbóreas, de modo geral, as características reprodutivas favorecem a manutenção de altos níveis de variabilidade genética.

Nas florestas tropicais, as espécies arbóreas são em sua grande maioria polinizadas por insetos e pequenos animais, sendo o vento exceção, diferente das florestas temperadas, onde o inverso é verdadeiro (Boshier, 2000). Estudos do sistema de reprodução em populações naturais têm, também, observado que a correlação de paternidade ( $r_p$ ) dentro de árvores é mais alta do que a esperada pelo modelo de cruzamentos mistos (cruzamentos aleatórios + autofecundações). Isso significa que parte das sementes produzidas por uma simples árvore é originada de pólen de poucos genitores e as sementes podem incluir diferentes graus de parentescos, como meios-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação.

Este trabalho teve por objetivo determinar o número adequado de árvores matrizes para a coleta de sementes em populações naturais visando reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas. Também foram discutidos conceitos relacionados ao sistema de reprodução e a genética de populações de espécies arbóreas e suas implicações nas atividades de coleta de sementes para fins de reflorestamentos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados para determinar o número de árvores para a coleta de sementes foram obtidos de 19 trabalhos publicados durante o período de 1990 a 2002 (TABELA 1), nos quais eram apresentadas as estimativas da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ), correlação de cruzamentos ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ). Esses parâmetros foram estimados pelos autores a partir do programa MLTR de Ritland (1994), com base em dados de marcadores genéticos codominantes (isoenzimas, microssatélites), avaliados em estruturas de progênies. Quando eram reportadas estimativas para várias populações de uma espécie, calculou-se a média entre populações. Estimativas para a mesma espécie por diferentes autores foram também agrupadas e calculadas a média dos parâmetros. Foram calculadas a média e o erro padrão da estimativa da taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ), correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ), proporção de progênies de irmãos de autofecundação ( $\hat{P}_{[IA]} = \hat{s}$ , sendo  $\hat{s}$  a taxa de autofecundação =  $1 - \hat{t}_m$ ), irmãos-completos ( $\hat{P}_{[IC]} = \hat{t}_m \hat{r}_p$ ) e meios-irmãos [ $\hat{P}_{[IM]} = \hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$ ].

O número de matrizes ( $\hat{m}$ ) para coleta de sementes foi estimado da relação entre o tamanho efetivo de uma simples progênie ( $\hat{N}_{e(1)}$ ) e valores teóricos de tamanho efetivo ( $N_e$ ) referenciados na literatura como adequados para a conservação da variabilidade genética de uma população no curto (10 gerações) e longo prazo (> 100 gerações),

$$\hat{m} = \frac{N_e}{\hat{N}_{e(1)}} \quad [1]$$

sendo,

$$\hat{N}_{e(1)} = \frac{0,5}{\hat{\theta} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n}} \quad (\text{Cockerham, 1969})$$

em que,  $n$  é o número total de progênies na população, assumido como infinito ( $n > 1.000$ );  $\hat{F}$  é o coeficiente de endogamia da população ou do conjunto de progênies, assumindo para fins de estimativa como zero. Logo, o tamanho efetivo de uma simples progênie pode ser estimado por  $\hat{N}_{e(1)} = 0,5 / \hat{\theta}$ ,

em que,  $\hat{\theta} = \hat{r}_{xy} / 2$ , é o coeficiente de parentesco entre plantas dentro de progênies e  $\hat{r}_{xy}$  é a correlação intraclasses entre plantas dentro de progênies, proposta por Ritland (1989) para espécies de reprodução mista:

$$\hat{r}_{xy} = \frac{1}{4} (1 + \hat{F}_p) [4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)] \quad [2]$$

sendo,  $\hat{F}_p$  o coeficiente de endogamia na geração parental;  $\hat{s}$  a taxa de autofecundação ( $1 - \hat{t}_m$ );  $\hat{t}_m$  a taxa de cruzamento multiloco ( $1 - \hat{s}$ );  $\hat{r}_s$  a correlação de autofecundação entre dois irmãos [ $COV_{sF}/s(1-s)$ ,  $COV_{sF}$  é a covariância de autofecundação];  $\hat{r}_p$  a correlação de paternidade [ $\hat{r}_p = 2f / (1 + F_p)$ , em que  $f$  é a correlação de gametas paternos;  $F_p$  é o coeficiente de endogamia da geração parental]. Como  $\hat{r}_p$  pode assumir o valor máximo de 1,0,  $f$  tem o valor máximo de  $(1 + F_p)/2$  (Ritland, 1989). Esse estimador de  $\hat{r}_{xy}$  traz a vantagem de considerar as variações na taxa de cruzamento entre árvores de uma população, a partir da correlação de autofecundação ( $r_s$ ). Para fins de estimativas, assumiu-se  $F_p = 0$ , e quando  $r_s$  não era apresentado no trabalho original, assumiu-se  $r_s = 0,1$ . Utilizou-se como referência para determinar o número de árvores para a coleta de sementes, valores teóricos de  $N_e$ , 50 (Frankel & Soulé, 1981), 100 (Nunney & Campbell, 1993) e 1.000 (Lynch, 1996), determinados como adequados para a conservação da variabilidade genética no curto prazo,

ou 10 gerações ( $N_e = 50$  e 100), e longo prazo, ou 100 gerações ( $N_e = 1.000$ ). Para fins de estimativa admitiu-se que: (i) um grande e mesmo número de sementes é coletado em cada árvore; (ii) as frequências gênicas e genotípicas das populações encontram-se nas proporções de equilíbrio de endogamia, podendo-se atribuir toda a endogamia ao sistema de reprodução.

A eficiência amostral do número de árvores determinadas para a coleta de sementes, foi avaliada pelo intervalo de confiança (IC) a 95% ( $\alpha = 0,05$ ) de probabilidade do erro da estimativa da frequência de um alelo raro  $\hat{p}_i = 0,05$

(Brown & Weir, 1983):  $IC = \hat{p}_i \pm 1,96\sqrt{\hat{\sigma}_{p_i}^2}$ .

A variância amostral da frequência de um alelo  $\hat{p}_i$  ( $\hat{\sigma}_{p_i}^2$ ), para um conjunto de  $m$  progênies de reprodução mista foi dada, segundo Brown & Weir (1983), por:

$$\hat{\sigma}_{p_i}^2 = \left[ 1 + \frac{(n-1)(1+\hat{s})^2}{4} \right] \cdot \left[ \frac{\hat{p}_i(1-\hat{p}_i)}{mn(2-\hat{s})} \right] \quad [3]$$

em que,  $n$  é o número de sementes coletadas por planta, assumido como infinito ( $n > 1.000$ ).

O número esperado de plantas maternas representadas em uma amostra retirada de um conjunto de sementes foi calculado, considerando o caso em que são coletadas sementes em  $m$  árvores matrizes (Hammond & Gardner, 1974). Para  $i = 1, 2, \dots, m$  matrizes incluídas na amostra, sendo  $x_i = 1$  se o parente  $i$  está representado na amostra e  $x_i = 0$  se o parente  $i$  não está representado na amostra. Então,  $n_m = x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_m$  é o número de parentes representados na amostra de  $n$  sementes. Assim,  $E(n_m)$  é o número de parentais femininos (matrizes) que se espera estar representado na amostra. A probabilidade da matriz  $i$  estar representada na amostra é  $P_{(x_i=1)} = 1 - P_{(x_i=0)}$ . Sendo,  $P_{(x_i=0)} = (1 - 1/m)^n$ , em que,  $(1 - 1/m)^n$  representa o número de vezes que a matriz  $i$  não ocorre na amostra de  $n$  sementes, logo,  $P_{(x_i=1)} = E(x_i) = [1 - (1 - 1/m)^n]$ , e o número de matrizes esperados na amostra é,

$$E(m) = m \left[ 1 - \left( 1 - \frac{1}{m} \right)^n \right] \quad (\text{Hammond \& Gardner, 1974}) \quad [4].$$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Número de Árvores para a Coleta de Sementes

As espécies arbóreas avaliadas na TABELA 1 evidenciaram desvios de cruzamentos aleatórios e a existência de grandes variações nas diferentes proporções de progênies entre as diferentes espécies. *Prosopis nigra* (Bessega *et al.*, 2000), por exemplo, apresentou taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m$ ) igual à unidade, mas suas progênies foram geradas por combinações de cruzamentos aleatórios e biparentais, resultando em misturas de meios-irmãos (39,2%) e irmãos-completos (60,8%). Tais resultados tornam difícil assumir o modelo aleatório para descrever o comportamento genotípico da descendência em espécies arbóreas e, portanto, para estimar o número de árvores adequadas para a coleta de sementes para reflorestamentos. Por exemplo, caso uma espécie se reproduzir por cruzamentos aleatórios e um número infinito de sementes for coletado em cada árvore ( $n > 1.000$ ), a coleta em 13 árvores seria suficiente para reter o tamanho efetivo de 50. Por outro lado, se ocorrerem misturas de cruzamentos aleatórios e cruzamentos biparentais, como por exemplo, o caso de *Prosopis nigra*, seria necessária a coleta de sementes em 20 árvores, ou seja, em 7 árvores a mais do que se os cruzamentos fossem aleatórios. Desvios de cruzamentos aleatórios são comuns em espécies arbóreas e os cruzamentos biparentais parecem ser mais generalizados em espécies polinizadas por animais (Sampson, 1998). As prováveis causas são autocompatibilidade, assincronismo no florescimento, comportamento forrageiro sistemático dos polinizadores visitando árvores próximas, populações subdivididas em estruturas de famílias, pequeno tamanho das populações, diferença na função masculina e feminina entre árvores, depósito de múltiplos grãos de pólen (poliandria) de mesmo parental paterno nas flores de uma mesma árvore, etc. Dessa forma, a estimativa do número de árvores para a coleta de sementes com base na pressuposição de cruzamentos aleatórios é insuficiente, podendo, em função da magnitude dos desvios, levar a erros graves no tamanho estimado e comprometer o potencial evolutivo das novas populações fundadas.

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas.

TABELA 1 - Número de populações ( $np$ ), número de locos ( $nl$ ), taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ), correlação de cruzamento ( $\hat{r}_s$ ), correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ), proporção de irmãos de autofecundação ( $P_{[IA]}$ ), irmãos-completos ( $P_{[IC]}$ ), meios-irmãos ( $P_{[MI]}$ ), coeficiente de parentesco ( $\hat{\theta}$ ) e número de matrizes para a coleta de sementes em algumas espécies arbóreas.

Espécie	$np$	$nl$	$\hat{t}_m$	$\hat{r}_s$	$\hat{r}_p$	$P_{[IA]}$	$P_{[IC]}$	$P_{[MI]}$	$\hat{\theta}$	Tamanho efetivo			
										$m=1$	50	100	1.000
Meios-irmãos	-	-	1	0	0	0	0	1	0,125	4,0	13	25	250
Irmãos-completos	-	-	1	0	1	0	1	0	0,250	2,0	25	50	500
Irmãos de autofecundação	-	-	0	0	0	1	0	0	0,500	1,0	50	100	1.000
<i>Picea mariana</i> <sup>1</sup>	2	8	0,991	0,100*	0,149	0,009	0,148	0,843	0,146	3,4	15	29	291
<i>Hymenaea courbaril</i> <sup>2</sup>	1	4	0,991	0,006	0,146	0,009	0,145	0,846	0,145	3,4	15	29	290
<i>Prosopis juliflora</i> <sup>3</sup>	3	12	0,974	0,122	0,131	0,026	0,128	0,846	0,148	3,4	15	30	295
<i>Cariniana legalis</i> <sup>4</sup>	3	14	0,956	0,090	0,277	0,044	0,265	0,691	0,168	3,0	17	34	337
<i>Pinus washoensis</i> <sup>5</sup>	4	4	0,862	0,100*	0,070	0,138	0,060	0,802	0,170	2,9	17	34	340
<i>Parapitadenia rigida</i> <sup>6</sup>	2	4	0,973	0,191	0,358	0,027	0,348	0,625	0,175	2,9	18	35	350
<i>Pinus pineana</i> <sup>7</sup>	3	13	0,870	0,100*	0,187	0,130	0,163	0,707	0,179	2,8	18	36	358
<i>Eucalyptus rameliana</i> <sup>8</sup>	1	6	0,890	0,100*	0,260	0,110	0,231	0,659	0,181	2,8	18	36	363
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> <sup>9</sup>	4	5	0,887	0,168	0,320	0,113	0,284	0,603	0,189	2,6	19	38	378
<i>Prosopis nigra</i> <sup>10</sup>	1	4	1,000	0,870	0,620	0,000	0,620	0,380	0,203	2,5	20	41	405
<i>Cryptocarya moschata</i> <sup>11</sup>	1	7	0,862	0,369	0,369	0,138	0,318	0,544	0,204	2,5	20	41	407
<i>Tabebuia cassinoideis</i> <sup>12</sup>	2	12	0,839	0,061	0,421	0,161	0,353	0,486	0,207	2,4	21	41	414
<i>Myracrodon urundeuva</i> <sup>13</sup>	5	6	0,889	0,106	0,531	0,111	0,472	0,417	0,209	2,4	21	42	417
<i>Chorisia speciosa</i> <sup>14, 15</sup>	2	7	0,895	0,122	0,604	0,105	0,541	0,354	0,215	2,3	22	43	431
<i>Genipa americana</i> <sup>16A</sup>	1	4	0,984	0,108	0,785	0,016	0,772	0,212	0,224	2,2	22	45	449
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> <sup>17</sup>	2	8	0,961	0,101	0,868	0,039	0,834	0,127	0,236	2,1	24	47	472
<i>Acacia melanoxylon</i> <sup>18</sup>	3	12	0,870	0,100*	0,910	0,130	0,792	0,078	0,248	2,0	25	50	497
<i>Eucalyptus marginata</i> <sup>19</sup>	4	4	0,810	0,360	0,750	0,190	0,608	0,203	0,251	2,0	25	50	501
<i>Prosopis chilensis</i> <sup>10</sup>	1	5	0,809	0,398	0,964	0,191	0,780	0,029	0,271	1,8	27	54	543
<i>Prosopis alba</i> <sup>10</sup>	1	4	0,781	0,866	0,805	0,219	0,629	0,152	0,281	1,8	28	56	561
Média - 20 espécies	46	-	0,905	0,263	0,476	0,095	0,425	0,480	0,203	2,6	21	41	406
Erro padrão			0,015	0,060	0,065	0,015	0,057	0,060	0,009	0,1	0,9	1,8	18,0

Ref. = Referência; 1: Perry & Bousquet (2001); 2: Santos (2002); 3: Oliveira (1999); 4: Sebbenn *et al.* (2000); 5: Mitton *et al.* (1997); 6: Ribas (1999); 7: Ledig *et al.* (2001); 8: Sampson (1998); 9: Rocha & Aguilar (2001); 10: Bessega *et al.* (2000); 11: Moraes (1997); 12: Sebbenn *et al.* (2001b); 13: Moraes *et al.* (2002); 14: Souza *et al.* (2002); 15: Luca *et al.* (2002); 16: Sebbenn *et al.* (1998); 17: Seoane *et al.* (2001); 18: Muona *et al.* (1991); 19: Millar *et al.* (2000).

( ) Desvio padrão. A: Reanalisado pelo método de "maximization expectation" Ritland (1994).

(\*) Valor assumido para fim de estimativa.

A estimativa do número de árvores para a coleta de sementes com base na média das estimativas da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) apresentadas na TABELA 1, indicam a necessidade de coletar sementes em pelo menos 21 árvores, para se reter o tamanho efetivo de 50, se a população onde será feita a coleta de sementes não for endogâmica. Também se observa que a coleta em 25 árvores seria suficiente para cobrir boa parte das variações na taxa de cruzamento e correlação de paternidade apresentadas pelas espécies listadas na referida tabela. O número de 25 árvores é também o tamanho amostral recomendado internacionalmente para a coleta de sementes para fins de conservação genética (Graudal *et al.*, 1997).

A estimativa do intervalo de confiança para um alelo de frequência 0,05, considerando os tamanhos amostrais determinados em função dos tamanhos efetivos de 50, 100 e 1.000, variaram de 0,017 a 0,022, 0,012 a 0,016 e 0,004 a 0,012, respectivamente, indicando que este alelo não será perdido ou fixado para nenhum dos tamanhos amostrais determinados, sendo estes, portanto, adequados para reflorestamento de áreas alteradas e degradadas.

### 3.2 Paternidade Entre e Dentro de Frutos

Estudos objetivando entender como é a relação de parentesco entre e dentro de frutos de mesma árvore, têm revelado que esta correlação é maior dentro de frutos do que entre frutos. Em *Eucalyptus rameliana*, Sampson (1998) observou que a correlação de paternidade dentro de frutos era de 26% e entre frutos de 9%. Estudo semelhante realizado em uma espécie anual, *Mimulus guttatus*, Ritland (1989) detectou resultados similares, com correlações de paternidade dentro de frutos na ordem de 37% e entre frutos de 21%. Esses dois trabalhos mostram que existe maior probabilidade de se amostrar indivíduos irmãos-completos quando sementes são coletadas do mesmo fruto, do que se estas forem coletadas de diferentes frutos. Para reduzir o grau de parentesco nas sementes é então desejável que estas sejam retiradas de diferentes frutos. Isso é particularmente importante na implantação de testes de progênies de polinização livre, para fins de melhoramento genético.

Uma das pressuposições básicas, nesse caso, é a de cruzamentos aleatórios, ou seja, que a relação de parentesco entre plantas dentro de progênies é de meios-irmãos. Desvios dessa pressuposição levam a vícios nas estimativas de parâmetros genéticos (Namkoong, 1966; Squillace, 1974). A coleta de sementes em diferentes frutos pode reduzir esses vícios.

Em plantios de recuperação esse resultado implica na necessidade de se coletar muitos frutos por árvore (> 100), procedendo-se posteriormente à mistura de suas sementes. Se grande número de frutos for tomado de uma árvore e muitas árvores incluídas na amostra final (conjunto gênico), a probabilidade de incluir sementes aparentadas no grau de irmãos-completos diminui.

### 3.3 Posição dos Frutos na Copa

Outro aspecto importante na coleta de sementes é a posição na copa onde é feita a coleta das sementes. Em *Eucalyptus globulos* L., Patterson *et al.* (2001) detectaram que em indivíduos autocompatíveis, a taxa de cruzamento era menor em sementes coletadas na parte inferior da copa, relativamente à parte superior. A taxa de cruzamento foi 63% a 33% menor na parte inferior da copa. Comportamento semelhante já havia sido relatado em espécies do gênero *Pinus* por Fowler (1965). Isso indica que a taxa de endogamia e o potencial para combinações homozigóticas de genes deletérios e a expressão da depressão por endogamia aumentam em sementes coletadas na parte inferior da copa. Em concordância, Patterson *et al.* (2001) observaram redução no número de sementes produzidas na parte inferior da copa, o que pode ser o reflexo da expressão de genes letais na fase prezigótica. A provável explicação para isso é a queda ou chuva de pólen da parte superior da copa, aumentando a taxa de autofecundação das flores localizadas na parte inferior.

Em termos gerais, verifica-se nesses trabalhos que não é possível considerar que o processo de polinização ocorra de forma homogênea em toda a copa de uma árvore. Contudo, esses poucos estudos são insuficientes para se entender com clareza este processo, sendo preciso repeti-los em outras espécies. Até que isso não seja devidamente esclarecido seria desejável coletar as sementes na parte superior da copa, o que poderia aumentar a qualidade e viabilidade das sementes e a qualidade e a eficiência dos plantios.

O problema é que muitas espécies arbóreas tropicais apresentam alturas superiores a 15 metros, dificultando juntamente com as condições de campo (cipós, alta densidade vegetal, topografia, etc.) a coleta de sementes nessa parte da copa, sendo a coleta realizada muitas vezes nos frutos localizados na parte inferior ou no solo, abaixo da copa. Quando possível, deve-se procurar coletar na parte superior e em condições onde isto não é viável, procurar coletar a maior quantidade possível de sementes e eliminar sementes ou mudas com indícios de endogamia, como plântulas com deficiência em clorofila.

### 3.4 Número de Parentes Representados na Amostra

O número de parentes representados em uma amostra é uma questão fundamental quando sementes são coletadas de várias árvores e misturadas em quantidades iguais por árvore matriz (controle gamético), formando um conjunto do qual serão retiradas amostras para posterior comercialização ou reflorestamento. Nesse caso, a noção do número de matrizes ou parentais femininos representados em um lote de sementes é relevante para estimar o tamanho efetivo e conhecer o potencial do material para auto-regeneração. Por exemplo, a coleta de 1.000 sementes por árvore, em 20 árvores, resulta no tamanho amostral total de 20.000 sementes. Se após a mistura das sementes, forem retiradas subamostras de 50 sementes, qual será o número de matrizes representadas na amostra? Utilizando-se a expressão 4, estima-se que 18,5 exemplares estejam representados nas subamostras de 50 sementes. Por outro lado, se o tamanho das subamostras for de 20 sementes, espera-se que apenas 12,8 matrizes estejam representadas. Portanto, quando o número de sementes na subamostra é pequeno, a probabilidade de representar genótipos maternos diminui, indicando que quando pequeno número de plantas de uma espécie for utilizado em plantios, seria preferível que as sementes, depois de coletadas, não fossem misturadas, e sim, uma semente fosse tomada de cada amostra de cada árvore. Dessa forma, o tamanho efetivo seria maximizado na nova população. Por outro lado, quando o número de sementes subamostradas aumenta, torna-se maior a chance de um maior número de matrizes serem representadas e as sementes podem ser misturadas em quantidades iguais por árvore matriz.

O limite superior na representatividade é o número de matrizes incluídas na amostra e se este for baixo, as subamostras serão sempre deficientes. Logo, reforça-se a indicação de utilizar-se grande número de matrizes na atividade de coleta de sementes. Essa recomendação está de acordo com a de Vencovsky (1987) que sugeriu, para a conservação genética, a coleta de sementes do maior número possível de indivíduos e em quantidade igual ou aproximadamente igual, de cada um.

### 3.5 Apomixia

A reprodução por apomixia é também outro fator importante a ser considerado no processo de coleta de sementes. Existem várias formas de reprodução apomítica, uma forma comum é a reprodução partenogênica na qual um indivíduo é gerado a partir de um óvulo não fertilizado ou de uma célula somática, sem contribuição genética paterna, o que resulta em um indivíduo de genótipo idêntico ao genótipo materno (Raven *et al.*, 1978). Essa forma de reprodução pode ser mais generalizada em espécies arbóreas tropicais do que se imagina (Kaur *et al.*, 1978). Segundo Spurr & Barnes (1984), a maior parte das espécies arbóreas tem alguma forma de reprodução assexual ou apomítica, o que dá ao indivíduo a capacidade de adaptação imediata ao ambiente de origem. A apomixia facultativa é o meio que, de um lado, permite a produção maciça de sementes de genótipos semelhantes e, de outro, preserva um estoque de variabilidade potencial que, mais tarde, pode ser liberado através da produção ocasional de sementes sexuadas (Swanson *et al.*, 1969).

A redução no tamanho populacional pode favorecer a depressão endogâmica e o aparecimento de apomixia, sendo que, neste caso, a agamospermia parece ser uma estratégia populacional para manutenção da variabilidade genética existente. Ela aumenta a proporção dos genótipos já existentes, ou seja, a apomixia facultativa pode conter o efeito da depressão endogâmica e deriva genética através do prolongamento e aumento do número de genótipos e, conseqüentemente, conservar a heterozigosidade advinda da reprodução sexuada (Murawski, 1995). A apomixia por si só não aumenta a endogamia, isto só acontece se a planta materna for endogâmica.

Contudo, plantios com sementes apomíticas de mesma planta materna, terão conseqüências indesejáveis já na primeira geração, como, por exemplo, o aumento da endogamia, dado que o cruzamento entre indivíduos idênticos (rametes), pode ser traduzido como autofecundação. A coleta de grande quantidade de sementes, em várias árvores e posterior mistura destas, podem reduzir a probabilidade de se estabelecer grandes número de indivíduos apomíticos próximos entre si nos plantios.

### 3.6 Endogamia

Endogamia ( $F$ ) é a probabilidade de dois alelos em um determinado loco de um indivíduo serem idênticos por descendência. Alguns estudos em espécies arbóreas têm evidenciado a ocorrência de endogamia em populações naturais (Comps *et al.*, 1990; Khasa *et al.*, 1994; Pérez-Nasser *et al.*, 1993; Alvarez-Buylla & Garay, 1994; Lee & Lee, 1997; Lin *et al.*, 1997; Raja *et al.*, 1997; Chung *et al.*, 2002; Jorgensen *et al.*, 2002). Entretanto, nesses casos dificilmente a endogamia supera a faixa de 10%. Em geral, o que se observa é baixa endogamia ( $F \approx 0$ ) ou excesso de heterozigotos ( $F < 0$ ) na fase adulta das árvores e excesso de endogamia na fase de plântula ( $F > 0$ ), sugerindo a existência de forte seleção contra endogâmicos e, em alguns casos, seleção para heterozigotos entre a fase de semente e a fase adulta, favorecendo a preservação de alelos e a variabilidade genética (heterozigosidade) nas populações. Esse quadro é altamente favorável à coleta de sementes em populações naturais, por garantir variabilidade genética nas sementes coletadas. Contudo, apesar da presença de variabilidade, parte das sementes conterà combinações gênicas desfavoráveis, devido as autofecundações e cruzamentos entre parentes. A parte da endogamia atribuída a genes letais será eliminada praticamente toda antes da formação das mudas, e boa parte restante, durante a fase de viveiro. No entanto, o maior problema refere-se à endogamia atribuída a genes semiletais. Se a seleção não atuar de forma efetiva, muitos indivíduos endogâmicos podem sobreviver por um certo período de tempo ou chegar à fase adulta, estéreis, reduzindo o tamanho efetivo, a fecundidade e a produtividade das populações fundadas (depressão por endogamia).

Em situações onde a nova população é pequena, isto poderá ser problemático. Entretanto, o que realmente se espera, é que a seleção atue eliminando os indivíduos endogâmicos, causando uma certa taxa de mortalidade nos plantios. Se for assumido que todos os indivíduos gerados por autofecundação e cruzamentos entre aparentados serão eliminados e que a taxa de autofecundação e de cruzamento entre parentes em espécies arbóreas é em média de 15% e 5%, respectivamente, poder-se-ia esperar 20% de mortalidade nos plantios de recuperação, excluindo eventos casuais como, por exemplo, predação e ataque de pragas.

A depressão por endogamia é fato em espécies arbóreas. Ela é o resultado da endogamia e da expressão de genes deletérios (letais e semiletais) em combinações homozigóticas, advindas principalmente de autofecundações e cruzamentos entre parentes. Suas conseqüências são a perda de vigor, redução na produtividade, fertilidade, etc. (Allard, 1971; Ritland, 1996; Falconer & Mackay, 1997). Estudos comparando progênies de autofecundação com a de cruzamento, em coníferas e folhosas arbóreas, têm exibido drástica depressão para produção de sementes, floração, germinação, sobrevivência e crescimento (Geburek, 1986; Griffin & Cotterrill, 1988; Hardner & Potts, 1995; Sorensen, 1997; Wu *et al.*, 1998; Sebbenn *et al.*, 2001a, entre outros). Em plantios, suas principais conseqüências são o aumento da mortalidade, redução na capacidade adaptativa e na produtividade média. Sorensen & Miles (1974) observaram depressão para crescimento em *Pseudotsuga menziensis* e *Pinus ponderosa* na ordem de 18% e 21%, respectivamente, nos primeiros anos de experimentação e mortalidade na ordem de 11% e 9%, respectivamente. Outras conseqüências seriam a redução na viabilidade das sementes e geração de plantas estéreis, o que em circunstâncias de pequenas populações, poderia implicar na incapacidade da população em se auto-regenerar (promover a regeneração da população a partir de indivíduos advindos de cruzamentos da própria população), comprometendo as futuras gerações. É, portanto, essencial reduzir a probabilidade de incluir progênies endogâmicas no material genético utilizado nos plantios ambientais, a fim de maximizar as chances de sucesso no estabelecimento dos mesmos reduzir a mortalidade e os custos de replantio.

A recomendação da coleta de sementes em 25 matrizes ( $\hat{m}$ ) é adequada para o caso de populações não endogâmicas (TABELA 1). Em populações endogâmicas esse número não é suficiente. Assumindo o equilíbrio de endogamia, taxas de autofecundação ( $s$ ) variando de 5% a 30%, e a correlação de autofecundação ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) média estimadas para as espécies listadas na TABELA 1 (0,263 e 0,476, respectivamente),

verifica-se a necessidade de coletar sementes entre 20 e 29 árvores para reter o tamanho efetivo de 50 (TABELA 2). Se considerarmos o intervalo de confiança a 95% de probabilidade do número de matrizes ( $\hat{m}$ ), este número se encontra entre 19 e 30 árvores para as situações apresentadas na TABELA 2. Portanto, em casos de coleta de sementes em populações onde existem indícios de endogamia, recomenda-se a amostragem de sementes em 30 árvores ao invés de 25.

TABELA 2 - Estimativa do número de árvores matrizes ( $\hat{m}$ ) e do intervalo de confiança (95% de probabilidade), para reter diversos tamanhos efetivos de referência ( $N_e$ ), em populações hipotéticas em equilíbrio de endogamia para diferentes taxas de autofecundação ( $s$ ) e índice de fixação ( $f = s/2 - s$ ), assumindo correlação de autofecundação ( $r_s$ ) igual a  $0,263 \pm 0,060$  e correlação de paternidade ( $r_p$ ) igual  $0,476 \pm 0,065$ .

$s$	$f$	$N_e = 50$	$N_e = 100$	$N_e = 1.000$
0,05	0,03	19,6 (18,2 a 21,3)	39,3 (36,3 a 42,6)	393,0 (363,4 a 426,5)
0,10	0,05	21,0 (19,6 a 22,6)	42,0 (39,3 a 45,2)	420,4 (393,0 a 451,5)
0,15	0,08	22,6 (21,3 a 24,0)	45,2 (42,6 a 48,1)	451,7 (426,1 a 480,6)
0,20	0,11	24,4 (23,2 a 25,7)	48,7 (46,3 a 51,4)	487,0 (463,2 a 514,1)
0,25	0,14	26,3 (25,2 a 27,6)	52,7 (50,4 a 55,2)	526,9 (504,5 a 552,4)
0,30	0,18	28,6 (27,5 a 29,8)	57,2 (55,0 a 59,6)	571,7 (550,4 a 596,1)

### 3.7 Tamanho Efetivo

Para reduzir os efeitos da endogamia em uma população, o tamanho efetivo de 50 é suficiente (Frankel & Soulé, 1981). Esse tamanho conserva muitos dos genes de uma população e pode ser suficiente para evitar os danos da depressão por endogamia, mas não é suficiente para manter por longo tempo grande proporção da variação genética de uma população. Para esse propósito, Franklin (1980) sugeriu o tamanho efetivo de 500. Com esse tamanho a entrada de nova variação pela mutação é comparável à perda devido à deriva genética (Lande & Barrowclough, 1987). Lande (1995) estimou que o tamanho efetivo de 5.000, em vez de 500, seria necessário para manter uma alta variação genética nas populações. Lynch (1996), por sua vez, determinou que seria necessário o tamanho efetivo de 1.000 para manter o potencial adaptativo normal de uma população, para caracteres quantitativos sob efeito do balanço entre deriva genética e mutação.

Os valores de 50 e 500 foram derivados para populações de gerações discretas (não sobrepostas), de cruzamentos aleatórios e assumindo

que a taxa de endogamia em um loco com dois alelos não deveria ser superior a 1% por geração. Essas condições normalmente não são válidas em populações naturais de espécies arbóreas. O tamanho efetivo pode ser muito menor do que o tamanho senso ou número de indivíduos que compõe a população. A causa pode ter várias origens, como, por exemplo, cruzamentos não aleatórios, sobreposição de geração, diferenças na fertilidade entre os indivíduos, desigual número de plantas masculinas e femininas em espécies dióicas e flutuações no tamanho da população de uma geração para outra (Crow & Denniston, 1988). Assim, Nunney & Campbell (1993), têm sugerido utilizar como referência os tamanhos de 50 e 500 multiplicados por duas a quatro vezes, e para algumas espécies possivelmente por mais, para compensar as diferenças genéticas, reprodutivas e demográficas das populações naturais em relação à população ideal hipotetizada para derivações dos tamanhos efetivos de 50 e 500. Esse princípio pode compensar, em alguns casos, a sobreposição de gerações, locos com mais de dois alelos e a exclusão de forças evolutivas prováveis de atuarem em populações naturais como seleção natural, deriva genética, mutação e suas combinações.

### 3.8 Estrutura Genética Espacial

As populações de espécies arbóreas são muitas vezes estruturadas em famílias, formando subpopulações ou demes em forma de manchas, onde as frequências alélicas tendem a ser homogêneas dentro das subdivisões e o parentesco interno está acima do esperado pelas suposições de cruzamentos aleatórios. A causa é a dispersão de sementes próximas à árvore matriz, aumentando a probabilidade de estabelecimento de filhos próximos a esta. São muitos os estudos relatando populações estruturadas, na sua maioria, tem-se verificado que o raio da mancha não é superior a 100 metros, em geral, encontra-se entre 20 a 50 metros. Em *Quercus margaretta* (Berg & Hamrick, 1994), *Rhus trichocarpa* (Chung *et al.*, 1999), *Eurya japonica* (Chung & Epperson, 2000), *Pinus strobus* (Epperson & Chung, 2001) e *Machaerium villosum* (Giudice Neto & Kageyama, 2000), o raio da mancha não excedeu a 30 metros. Em *Alnus glutinosa* (Gömöry & Paule, 2002), *Abies balsamiae* (Shea & Furnier, 2002) e *Myracrodruon urundeuva* (Moraes *et al.*, 2002), a distância das manchas foi um pouco maior, chegando a 100 metros no caso da primeira espécie. A dispersão de sementes por gravidade (autocoria) e vento (anemocoria) pode ser a responsável pelo tamanho da mancha. Essas formas de dispersão de sementes são comuns em espécies arbóreas.

A hipótese de que as populações naturais poderiam ser estruturadas levou à recomendação geral para teste de progênies e procedências, que sementes de polinização livre deveriam ser coletadas respeitando-se a distância mínima de 100 metros entre árvores (Shimizu *et al.*, 1982; Eldridge *et al.*, 1993), ou pelo menos duas vezes a altura das árvores (Eldridge *et al.*, 1993), isto evitaria que árvores maternas aparentadas fossem amostradas nos testes. Com os resultados atuais verifica-se que essa hipótese estava aparentemente correta. Portanto, continua válida essa regra que deve ser respeitada também no caso da coleta para reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas.

Vale ressaltar que essa recomendação baseou-se na pressuposição de que as espécies que ocorrem em uma área têm distribuição homogênea. Isso pode ser verdadeiro para algumas espécies de florestas semidecíduais, mas pouco provável de ser verdadeiro para todas as espécies desses ecossistemas.

No caso do cerrado, tem-se observado que muitas espécies têm distribuição agregada e descontínua (Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, informação verbal). A distância de 100 metros pode, em casos de pequenas populações, ser reduzida a fim de se incluir um número mínimo de 25 árvores na amostra. É importante saber que essa recomendação reduz a probabilidade de se coletar sementes de matrizes aparentadas, mas não evita que sementes endogâmicas originadas do cruzamento entre parentes maternos e paternos dentro das manchas sejam incluídas na amostra, um outro bom motivo para sua adoção.

### 3.9 Fluxo Gênico

O fluxo gênico é a troca de material genético (sementes e pólen) entre populações de uma espécie. Ele mantém as populações coesas, em termos de frequências gênicas (Crow & Kimura, 1970; Hedrick, 1999). Dependendo de sua magnitude e intensidade, pode se opor a seleção natural e barrar efeitos negativos da deriva genética, como perda de alelos e heterozigosidade. Estudos indicam que o fluxo gênico é fortemente afetado pela distância que separa as populações. Populações próximas tendem a manter maior troca gênica do que populações distantes, em concordância com o modelo de isolamento por distância proposto por Wright (1943). De acordo com esse modelo o fluxo gênico ocorreria com maior intensidade entre populações vizinhas. Para a coleta de sementes o fluxo deve ser visto como um fator altamente favorável, promovendo aumento de variabilidade genética no material coletado. Intuitivamente, em pequenas populações, o fluxo gênico intenso pode reduzir a correlação de paternidade dentro do conjunto de sementes de uma árvore, pelo aumento do número de parentais paternos contribuindo para as descendências. Contudo, o avançado estado de fragmentação em que se encontra a grande maioria das florestas naturais brasileiras, reduz o potencial de fluxo gênico, em especial das espécies que dependem de vetores de dispersão como mamíferos, os quais se encontram praticamente impedidos de percorrer as longas distâncias que separam os fragmentos, dada a ocupação por aglomerados urbanos, estradas, monocultura intensiva, etc. Portanto, a escolha do fragmento onde será feita a coleta se torna importante, devendo-se dar preferência a fragmentos grandes e não isolados.

### 3.10 Tamanho da Área

O reflorestamento de áreas iguais ou menores do que 100 hectares podem ser feitos a partir da coleta de sementes em 25 árvores. Estas podem estar localizadas em um mesmo fragmento ou população ou, ainda, em diferentes populações. Porém, o número e a densidade de exemplares da espécie na população é importante. O tamanho da população deve ser de preferência grande, diz-se maior do que 150 indivíduos (Graudal *et al.*, 1997). Estudos do sistema de reprodução em espécies arbóreas têm mostrado que árvores isoladas (Burrows, 2000) e populações de baixa densidade populacional (Murawski & Hamrick, 1991; Young & Brown, 1998) são mais propícias a receberem pólen de poucos indivíduos e à autofecundação do que árvores em populações grandes e adensadas. Além disso, intuitivamente, em pequenas populações aumenta a probabilidade de ocorrerem cruzamentos biparentais, mesmo que mecanismos como assincronismo no florescimento (protandria e protoginia) estejam ausentes. Por exemplo, se uma população ou grupo de árvores isoladas em um fragmento é composto por 10 exemplares de uma espécie e cada árvore produzir 100 sementes, poderiam existir no máximo nove diferentes potenciais polinizadores para cada árvore (excluindo o fluxo gênico), ou seja, o tamanho da população menos o indivíduo considerado, assumindo ausência de autofecundações e máximo de aleatoriedade nos cruzamentos. Assim, em cada árvore, aproximadamente 11 sementes teriam o mesmo parental materno e paterno, sendo sua relação de parentesco de irmãos-completos. As sementes originadas de pólen de diferentes árvores seriam aparentadas no grau de meios-irmãos maternos (mãe comum e pai diferente) e as sementes originadas de diferentes árvores, mas de mesmo polinizador seriam aparentadas no grau de meios-irmãos paternos (pai comum e mãe diferente). A proporção de cada tipo de progênie dependerá do número de polinizadores envolvidos nos cruzamentos. Quanto maior for esse número, maior será a proporção de meios-irmãos. Esse exemplo representa um caso possivelmente comum em espécies arbóreas tropicais polinizadas por insetos e animais. Os fragmentos costumam ser pequenos (< 100 ha) e as espécies arbóreas tropicais são, em sua grande maioria,

de baixa densidade populacional (< 1 indivíduo por hectare), sendo difícil encontrar populações grandes (> 500 indivíduos). Além disso, a polinização por insetos, comum nessas espécies (Bawa *et al.*, 1985), pode implicar no comportamento forrageiro sistemático dos polinizadores, visitando consecutivamente árvores próximas, depositando múltiplos grãos de pólen sobre as flores, o que, combinado com o assincronismo no florescimento, leva a desvios de cruzamentos aleatórios. Isso reforça a necessidade de considerar desvios de cruzamentos aleatórios na determinação de tamanhos amostrais para reflorestamentos. Em situações em que não há a disponibilidade de fragmentos grandes ou florestas contínuas, deve-se procurar coletar sementes em vários pequenos fragmentos simultaneamente. Contudo, fragmentos onde o número de exemplares é muito baixo (< 5) devem ser evitados pelo aumento expressivo da probabilidade de irmãos-completos e irmãos de autofecundação serem coletados e incluídos na amostra, a não ser que a espécie alvo seja extremamente rara e não exista disponibilidade de material genético próximo. Nesse caso, é importante que o coletor, pelo menos, tenha noção do provável parentesco do material utilizado nos plantios e das conseqüências prováveis dessa prática nas futuras gerações.

Para o reflorestamento de áreas maiores do que 100 hectares, o tamanho efetivo referencial de 50 para determinar o tamanho amostral é insuficiente. Adotando-se um maior tamanho efetivo de referência, evita-se repetir populações provenientes de mesma base genética, e conseqüentemente problemas futuros, como os efeitos da deriva genética e aumento de parentesco e endogamia. O reflorestamento de grandes áreas com material proveniente de poucas matrizes pode vir a comprometer o potencial evolutivo das espécies, aumentando os níveis de endogamia e parentesco e reduzindo as chances desta se adaptar e de auto-regenerar-se em todas as áreas de plantio. Assim, sugere-se que se adote o tamanho efetivo de 100 (Nunney & Campbell, 1993), para o reflorestamento de áreas entre 100 a 500 hectares, e o tamanho efetivo de 1.000 (Vencovsky, 1987; Lynch, 1996) em áreas superiores a 500 hectares, como suficiente para manter a taxa de endogamia na faixa de 1% por geração e evitar futuros problemas de deriva genética.

Em populações não endogâmicas, considerando a estimativa média da taxa de cruzamento ( $t_m$ ) e da correlação de paternidade ( $r_p$ ) apresentadas na TABELA 1, seria necessário coletar sementes em pelo menos 40 a 50 árvores e 410 a 500 árvores para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, respectivamente. A coleta em 20 a 25 árvores em duas diferentes zonas de produção de sementes (áreas ecogeograficamente diferentes) já satisfaria a necessidade do tamanho efetivo de 100. Para o caso de grandes áreas (> 500) poder-se-ia coletar sementes em 20 a 25 árvores em 20 diferentes zonas de produção de sementes, representando amplas regiões ecogeográficas da espécie. Deve-se dar preferência, nesse caso, a fragmentos ou populações grandes, localizados em áreas ecologicamente divergentes em termos de clima, topografia, altitude e solo e representando boa parte da distribuição geográfica das espécies. Essa recomendação se baseia no fato de que a diferenciação genética entre populações dentro de uma espécie é promovida principalmente por três diferentes forças evolutivas: seleção natural, deriva genética e mutação. Em um dado ambiente, a seleção natural é geralmente a força mais importante, considerando caracteres como sobrevivência e crescimento, sob diferentes condições (Gradual *et al.*, 1997). Essas forças possibilitam que nas populações de uma espécie existam quatro diferentes tipos de classes de alelos: (i) alelos comuns, amplamente dispersos; (ii) alelos comuns, localizados; (iii) alelos raros, amplamente dispersos, e (iv) alelos raros, localizados (Marshall & Brown, 1975). Das quatro classes, os alelos comuns amplamente dispersos são os mais fáceis de amostrar, sendo representados em pequenos tamanhos amostrais, independente da estratégia de coleta adotada, ou seja, amostra de uma ou várias populações. Os alelos que são comuns e localizados são mais difíceis de amostrar do que os da primeira classe porque dependem da divergência genética entre as populações e, o número de populações passa a ser um fator importante no tamanho final da amostra. Segundo Marshall & Brown (1975), essa classe de alelos deveria ser priorizada na amostragem, porque provavelmente inclui alelos que

conferem adaptação para condições ambientais específicas. Os alelos da terceira classe, ou alelos raros amplamente dispersos, ocorrem em muitas populações, portanto, sua captura depende mais do tamanho final da amostra do que do número de populações amostradas. A última categoria, alelos raros e localizados, é a mais difícil de amostrar, porque depende simultaneamente do número de indivíduos amostrados dentro das populações e do número de populações, esta implica na amostragem de toda a espécie, o que é, na maioria das vezes, impraticável em termos de manejo de recursos genéticos. A amostragem da segunda classe, alelos comuns localizados, é, portanto, o alvo da amostragem para a coleta de sementes para a recuperação de grandes áreas geográficas. Dessa forma, aumentam as chances de ampliar a base genética no conjunto de sementes, pela inclusão de genes com diferentes frequências nas populações da espécie alvo.

No caso de populações endogâmicas (TABELA 2), em equilíbrio de endogamia e considerando a taxa de autofecundação ( $s$ ) variando de 5% a 30%, e a correlação de autofecundação ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) média estimadas para as espécies listadas na TABELA 1 (0,263 e 0,476, respectivamente), seria necessário coletar sementes entre 40 a 58 árvores e 393 a 572 árvores para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, respectivamente. Se considerarmos o intervalo de confiança a 95% de probabilidade do número de matrizes ( $\hat{m}$ ), o número de matrizes para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000 encontra-se entre 37 a 60 árvores e 364 a 597 árvores, respectivamente. Com base no maior valor do intervalo de confiança, 60 e 597, para os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, a coleta de sementes em 30 matrizes em duas populações ou fragmentos, ou 20 populações, garantem a retenção destes dois tamanhos efetivos. Ressalta-se, igualmente, como no caso de populações não endogâmicas, a necessidade de que estas populações ou fragmentos, em situações de reflorestamentos de áreas iguais ou maiores do que 100 e 500 hectares, representem diferentes ecorregiões de ocorrência das espécies.

### 3.11 Zoneamento Ecológico para a Coleta de Sementes

O zoneamento ecológico para coleta de sementes é primordialmente importante quando se pensa no desenvolvimento de programas de reflorestamentos com espécies nativas em grandes áreas como, por exemplo, um estado ou país. O zoneamento é importante para reduzir os custos de coleta e aumentar a eficiência do processo de reflorestamento. Uma zona ecológica de coleta de sementes pode ser definida como uma área em que existe suficiente uniformidade nas condições ecológicas que permitam assumir similaridade fenotípica ou genética para os caracteres quantitativos de uma espécie (Graudal *et al.*, 1997). Em outros termos, significa uma área em que as condições como topografia, altitude, tipo de solo e clima são semelhantes, a ponto de poder-se assumir que as populações que a compõe apresentam baixa divergência genética entre si (< 5%), ou seja, assume-se que a similaridade de condições ecológicas implica similaridade na constituição genética (Frankel, 1970). Tal fato baseia-se na suposição de que a adaptação local, determinada pela seleção natural, é a principal força atuando no processo de diferenciação genética entre populações.

A comparação da distribuição da variabilidade genética de uma espécie em zonas ecológicas bem definidas promove a base para a amostragem de sementes para o reflorestamento com espécies nativas. A zona de coleta não pode ser muito pequena, dado que o fluxo de pólen entre zonas vizinhas pode prevenir o desenvolvimento de diferenciação genética entre populações de diferentes zonas, logo, não seriam zonas diferentes. Por outro lado, a zona de coleta não pode ser muito grande, porque importantes diferenças genéticas podem existir entre populações dentro da zona (Graudal *et al.*, 1997), as quais não seriam amostradas e o potencial para adaptação poderia ser reduzido. Definindo zonas de coleta de sementes desta forma, espera-se que dentro da zona exista baixa diferenciação entre populações (< 5%) e a coleta de sementes implique na amostragem de mesmo conjunto gênico, com potencial particular para a adaptação a locais da própria zona ou com características ecológicas similares. Entre zonas, espera-se que a divergência genética entre populações seja média (5% a 15%) ou grande (> 5%) e assim as novas populações fundadas nas diferentes zonas respeitarão os padrões de estrutura observados na natureza.

Por outro lado, quando o reflorestamento for realizado fora das zonas de coleta, deve-se procurar incluir amostras de sementes de todas as zonas, a fim de aumentar a probabilidade de sucesso no plantio.

### 3.12 Considerações Finais

Para atenuar os efeitos da correlação de paternidade, apomixia, endogamia e variações na taxa de cruzamento entre frutos em diferentes posições na copa deve-se coletar grande quantidade de sementes por árvore e misturá-las em quantidades iguais ou aproximadamente iguais por árvore (controle gamético).

Os estudos do sistema de reprodução, distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações, fluxo gênico entre populações e distribuição espacial de genótipos dentro de populações, podem ajudar em muito a definir populações, número adequado de árvores para a coleta de sementes e o zoneamento de áreas para a coleta de sementes. Entretanto, é praticamente impossível estudar todas as espécies, sendo necessário definir prioridades como, por exemplo, espécies em risco de extinção, espécies de valor econômico e espécies medicinais. Comparativamente à grande diversidade de espécies arbóreas tropicais brasileiras, poucas foram as estudadas para alguns desses aspectos. Ainda, a maioria destas foi estudada para um número limitado de populações (< 10), representando pouco a estrutura genética real das espécies. Enquanto um maior volume de tais informações não for obtido, pode-se fazer uso das recomendações aqui sugeridas.

Finalmente, o reflorestamento de áreas alteradas e degradadas, combinando inúmeras espécies simultaneamente, pode ser uma das formas mais eficientes de conservação genética *ex situ*, se a base genética utilizada nos plantios for adequada. O reflorestamento com espécies arbóreas nativas implica em fundar novas populações com base genética ampla, onde os indivíduos mais adaptados a cada ambiente sobrevivem para dar origem às futuras gerações. Com o tempo, as novas populações fundadas de uma mesma base genética vão divergir por seleção natural e/ou deriva genética e uma nova fonte de variação será criada entre populações. Intuitivamente, isso parece ser mais eficiente, em termos de conservação genética evolutiva, do que manter plantios de espécies em risco de extinção, restritas a delineamentos experimentais, repetidos em dois ou três locais, sujeitos igualmente às forças de seleção e deriva genética e à extinção por catástrofes como incêndios, pragas, ventos, etc.

#### 4 SUGESTÕES PARA A COLETA DE SEMENTES

1. Coletar grande quantidade de sementes por árvore e misturá-las em quantidades iguais ou aproximadamente iguais por matriz.
2. Coletar sementes preferencialmente na parte superior da copa.
3. Marcar matrizes distanciadas entre si em pelo menos 100 metros, ou duas vezes a altura da árvore.
4. O reflorestamento de áreas menores que 100 hectares pode ser feito a partir da coleta de sementes em 25 árvores, localizadas em um ou mais fragmentos ou populações. Em caso de populações endogâmicas esse número deve ser de 30 árvores matrizes.
5. O reflorestamento de áreas entre 100 e 500 hectares deve ser feito a partir da coleta de sementes em 40 a 50 árvores, localizadas preferencialmente em vários fragmentos ou populações. Se as populações onde serão feitas as coletas de sementes forem endogâmicas é preferível aumentar esse número para 60 árvores matrizes.
6. O reflorestamento de áreas superiores a 500 hectares deve ser realizado com coleta de sementes entre 400 a 500 árvores, pelo menos, localizadas obrigatoriamente em vários fragmentos e ecorregiões de distribuição de uma espécie. Se as populações onde serão feitas as coletas de sementes forem endogâmicas esse número deve ser de 597 árvores matrizes.

#### 5 AGRADECIMENTOS

O autor é grato ao engenheiro florestal Msc. Girlei Costa da Cunha e aos Professores Doutores Mario Luiz Teixeira de Moraes e Maurício Sadrez dos Reis pela revisão do manuscrito e valiosas sugestões. O autor também agradece à assistente técnica de pesquisa científica e tecnológica Yara Cristina Marcondes pela revisão da língua portuguesa, incorporando maior clareza e qualidade ao artigo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARAY, A. A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species. **Evolution**, Lawrence, v. 48, n. 2, p. 437-453, 1994.

BAWA, K. S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. **Evolution**, Lawrence, v. 28, p. 85-92, 1974.

\_\_\_\_\_; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. 1. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 72, n. 3, p. 331-45, 1985.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Spatial and genetic structure of two sandhills oaks: *Quercus laevis* and *Quercus margaretta* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 81, p. 7-14, 1994.

BESSEGA, C. *et al.* Mating system parameters in species of genus *Prosopis* (Leguminosae). **Hereditas**, Oxford, v. 132, p. 19-27, 2000.

BOSHIER, D. H. Mating systems. In: YOUNG, A.; BOSHIER D. H.; BOYLE T. **Forest conservation genetics: principles and practice**. Australia: CSIRO Publishing, 2000. p. 63-79.

BROWN, A. H. D.; WEIR, S. B. Measuring genetic variability in plant populations. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1983. part A, p. 219-239.

BURROWS, G. E. Seed production in woodland and isolated trees of *Eucalyptus melliodora* (yellow box, Myrtaceae) in the South Western slopes of New South Wales. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 681-685, 2000.

CHUNG, M. G.; CHUNG, J. M.; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms within populations of *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 48, n. 5, p. 223-227, 1999.

\_\_\_\_\_; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms in a population of *Eurya japonica* (Theaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2000.

CHUNG, M. Y. *et al.* Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 8, p. 1229-1236, 2002.

COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lawrence, v. 23, p. 72-84, 1969.

- COMPS, B. *et al.* Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. **Heredity**, Lund, n. 65, p. 407-417, 1990.
- CROW, J. F.; DENNISTON, C. Inbreeding and variance effective population numbers. **Evolution**, Lawrence, v. 42, p. 482-495, 1988.
- \_\_\_\_\_; KIMURA, M. A. **An introduction to population genetics theory**. London: Harper & Row, 1970. 591 p.
- ELDRIDGE, K. *et al.* **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 288 p.
- EPPERSON, B. K.; CHUNG, M. G. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Pinus strobus* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 88, n. 6, p. 1006-1010, 2001.
- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Harlow: Longman, 1997. 463 p.
- FOWLER, D. P. Effects of inbreeding in red pine, *Pinus resinosa*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 14, p. 38-46, 1965.
- FRANKEL, O. H. Genetic conservation in perspective. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. **Genetic resources in plants: their exploration and conservation**. Oxford: Blackwell, 1970. p. 469-489. (IBP Handbook, 11).
- \_\_\_\_\_; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution**. London: Cambridge University Press, 1981. 327 p.
- FRANKLIN, I. A. Evolutionary change in small populations. In: SOULÉ, M. E.; WILCOX, B. A. **Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective**. Sunderland: Sinauer Associates, 1980. p. 135-150.
- GEBUREK, T. Some results of inbreeding depression in Serbian Spruce [*Picea omorica* (Panc.) Purk.]. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 35, p. 169-172, 1986.
- GIUDICE NETO, J. D.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Machaerium villosum* Vog. (Leguminosae) na região de Moji-Guaçu, SP, Brasil. **Rev. Bras. de Bot.**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 207-215, 2000.
- GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Spatial and microgeographical genetic differentiation of black alder (*Alnus glutinosa* Gaertn.) populations. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 160, p. 4-9, 2002.
- GRAUDAL, L. *et al.* **Planning national programmes for conservation of forest genetic resources**. Humlebaek: Danish International Development Agency - DANIDA, Forest Seed Centre, 1997. 58 p. (Technical Note, 48).
- GRIFFIN, A. R.; COTTERILL, P. P. Genetic variation in growth of outcrossed, selfed and open-pollinated progenies of *Eucalyptus regnans* end some implications for breeding strategy. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 124-131, 1988.
- HAMMOND, J. J.; GARDNER, C. O. Effect of genetic sampling technique on variation within populations derived by crossing, selfing, or random-mating others populations. **Crop Science**, Madison, v. 74, p. 63-66, 1974.
- HARDNER, C. M.; POTTS, B. M. Inbreeding depression and changes in variation after selfing in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 44, n. 1, p. 46-54, 1995.
- HEDRICK, P. W. **Genetics of populations**. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 1999. 552 p.
- JORGENSEN, S.; HAMRICK, J. L.; WELLS, P. V. Regional patterns of genetic diversity in *Pinus flexilis* (Pinaceae) reveal complex species history. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 8, p. 792-800, 2002.
- KAUR, A. *et al.* Apomixis may be widespread among tree of the climax rain forest. **Nature**, London, v. 271, p. 440-442, 1978.
- KHASA, P. D.; CHELIAK, W. M.; BOUSQUET, J. Genetic variation in 26 populations of *Racosperma auriculiformes* and *Racosperma mangium* using allozymes. **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 24, p. 1123-1132, 1994.

- KRUSCHE, D.; GEBUREK, T. Conservation of forest gene resources as related to sample size. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 40, p. 145-150, 1991.
- LANDE, R.; BARROCLOUGH, C. F. Effective populations size, genetic variation and their use in population management. In: SOULÉ, M. E. **Viable population for conservation**. London: Cambridge University Press, 1987. p. 87-123.
- LANDE, R. Mutation and conservation. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 9, p. 782-791, 1995.
- LEDIG, F. T. Genetic diversity and the mating system of a rare Mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 88, n. 11, p. 1977-1987, 2001.
- LEE, S. W.; LEE, M. H. Genetic variation of *Juglans sinensis* in Korea. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 46, p. 102-107, 1997.
- LIN, T. P.; CHENG, Y. P.; HUANG, S. G. Allozyme variation in four geographic areas of *Cinnamomum kanehirae*. **Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 433-438, 1997.
- LUCA, A. Q. *et al.* Sistema de reprodução e diversidade genética em plantio de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae). **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 105-113, 2002. (No prelo).
- LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE J. C.; HAMRICK, J. L. **Conservation genetics: case studies from nature**. New York: Chapman & Hall, 1996. p. 471-501.
- MARSHALL, D. R.; BROWN, A. H. D. Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. **Crop genetic resources for today and tomorrow**. London: Cambridge University Press, 1975. p. 53-80.
- MILLAR, M. A. *et al.* Mating system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 475-479, 2000.
- MITTON, J. B.; LATTA, R. G.; REHFELDT, G. E. The pattern of inbreeding in washoe pine and survival of inbred progeny under optional environmental conditions. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 46, n. 4, p. 215-219, 1997.
- MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Mating system in natural populations of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Alemão from Brazil. **Forest Genetics**, Zvolen, 2002. 21 p. (Submetido).
- MORAES, P. L. R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees (Lauraceae)**. 1997. 190 f. Tese (Doutorado em Genética), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro.
- MUONA, O.; MORAN, G. F.; BELL, J. C. Hierarchical patterns of correlated mating in *Acacia melanoxylon*. **Genetics**, Baltimore, v. 127, p. 619-626, 1991.
- MURAWSKI, D. A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from canopy perspective. In: LOWMAN, M. D.; NADKARNI, N. M. **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p. 457-493.
- \_\_\_\_\_; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Lund, v. 67, p. 167-174, 1991.
- NAMKOONG, G. Inbreed effects on estimation of genetic additive variance. **Forest Science**, Washington, D.C., v. 12, p. 8-13, 1966.
- NEI, M. Molecular population genetics and evolution. In: NEUBERGER, A.; TATUM, E. L. **Frontiers of Biology**. New York: Elsevier Science Publishers, 1975. p. 40-89.
- NUNNEY, L.; CAMPBELL, K. A. Assessing minimum viable population size: Demography meets population genetics. **Tree**, Victoria, v. 8, n. 7, p. 234-239, 1993.
- OLIVEIRA, V. R. **Diversidade genética em populações de algaroba [(*Prosopis juliflora*) (S.W.) D.C.] na região semi-árida do Nordeste brasileiro**. 1999. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- PATTERSON, B. VAILLANCOURT, R. E.; POTTS, B. M. Eucalypts seed collectors: beware of sampling seedlots from low in the canopy! **Australian Forestry**, Melbourne, v. 64, n. 3, p. 139-142, 2001.

PÉREZ-NASSER, N.; EGUIARTE, L.; PIÑERO, D. Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, n. 80, v. 1, p. 45-52, 1993.

PERRY, D. J.; BOUSQUET, J. Genetic diversity and mating system of post-fire and post-harvest black spruce: an investigation using codominant sequence-tagged-site (STS) markers. **Canadian Journal Forest Research**, Edmonton, v. 31, p. 32-40, 2001.

RAJA, R. G. *et al.* Isoenzyme variation and genetic structure in natural populations of shortleaf pine (*Pinus echinata*). **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 27, p. 740-749, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 724 p.

RIBAS, L. A. **Variabilidade isoenzimática e sistema de cruzamento de *Parapiptadenia rigida* em um pomar de sementes**. 1999. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989.

\_\_\_\_\_. **Multilocus mating system program MLTR: version 1.1**. Canada: University of British Columbia, 1994. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 18 abr. 1997.

\_\_\_\_\_. Inferring the genetic basis of inbreeding depression in plants. **Genome**, Ottawa, v. 39, p. 1-8, 1996.

ROCHA, O. J. R.; AGUILAR, G. Variation in the breeding behavior of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 9, p. 1600-1606, 2001.

SAMPSON, J. F. Multiple paternity in *Eucalyptus rameliana* (Myrtaceae). **Heredity**, Lund, v. 81, p. 349-355, 1998.

SANTOS, J. D. **Estudo ecológico e genético numa paisagem fragmentada visando sua conectividade, no Pontal do Paranapanema-SP**. 2002. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 15-30, 1998.

SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 25-40, 2000.

SEBBENN, A. M. *et al.* Depressão por endogamia em populações de jequitibá-rosa. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 61-81, 2001a.

SEBBENN, A. M. *et al.* Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 93-113, 2001b.

SEOANE, C. E. C.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 19-26, 2001.

SHEA, K.; FURNIER, G. R. Genetic variation and population structure in central and isolated populations of Balsam Fir, *Abies balsamiae* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 5, p. 783-791, 2002.

SHIMIZU, J. Y.; KAGEYAMA, P. Y.; HIGA, A. R. **Procedimentos e recomendações para estudos com progênies de essências florestais**. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 1982. 34 p. (Documentos EMBRAPA-URPFCS, 11).

SORENSEN, F. C. Effects of sib mating and wind pollination on nursery seedling size, growth components, and phenology of Douglas-Fir seed-orchard progenies. **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 27, p. 557-566, 1997.

SORENSEN, F. C.; MILES, R. Self-pollination effects on Douglas-Fir and Ponderosa pine seeds and seedlings. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, n. 5, p. 135-138, 1974.

SOUZA, L. M. I.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em *Chorisia speciosa*. **Rev. Bras. de Bot.**, São Paulo, 2002. 20 p. (Submetido).

SPURR, S. H.; BARNES, B. V. **Ecologia florestal**. São Paulo: AGT Editora, 1984. p. 12-97.

SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, p. 149-156, 1974.

SWANSON, C. P.; MERZ, T.; YOUNG, W. J. **Citogenética**. São Paulo: Polígono, Editora da Universidade de São Paulo, 1969. 244 p.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamias. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, 1987.

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, Baltimore, v. 28, n. 2, p. 114-138, 1943.

WU, H. X.; MATHESON, A. C.; SPENCER, D. Inbreeding in *Pinus radiata*. 1. The effect of inbreeding on growth, survival and variance. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, p. 1256-1268, 1998.

YOUNG, A. G.; BROWN, A. D. H. Comparative analysis of the mating system of the rare woodland shrub *Daviesia suaveolens* and its common congener *D. mimosoides*. **Heredity**, Lund, v. 80, p. 374-381, 1998.

# VARIAÇÃO GENÉTICA EM PROGÊNIES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. EM DIFERENTES SISTEMAS DE PLANTIO<sup>1</sup>

Miguel Luiz Menezes FREITAS<sup>2</sup>  
Mario Luiz Teixeira de MORAES<sup>3</sup>  
Salatier BUZETTI<sup>4</sup>

## RESUMO

Devido à necessidade do conhecimento da variabilidade genética em espécies nativas, procurou-se estudar, em uma população de aroeira, a melhor forma de consórcio, a partir de espécies de interesse econômico e disponíveis para plantio. O experimento foi instalado em dezembro de 1992, na Fazenda de Ensino e Pesquisa da FEIS/UNESP, no município de Selvíria - MS, onde foi conduzido um teste de progênies envolvendo 10 famílias originárias de Petrolina - PE, em 7 sistemas de plantio e 3 repetições. O espaçamento entre plantas de aroeira, e para as outras espécies em consórcio, foi de 3,0 x 3,0 m. Estudaram-se os caracteres silviculturais e nutricionais, sendo os dados coletados aos quatro anos e seis meses após o plantio. Obtiveram-se médias para coeficiente de variação experimental, coeficiente de variação genética e herdabilidade em nível de média no sentido restrito, respectivamente, de 14,80%, 4,54% e 0,63, para os caracteres estudados, destacando-se, para uma eventual seleção, a altura da planta e o número de ramos. Verificou-se que o consórcio envolvendo canafistula e jerivá foi o mais promissor para o desenvolvimento da aroeira.

Palavras-chave: aroeira; variabilidade genética; sistemas de plantio; caracteres quantitativos.

## 1 INTRODUÇÃO

Áreas antes ocupadas por mata passaram a ser utilizadas como campo para criação animal e produção agrícola de alimentos para consumo humano. Com o crescimento da indústria transformadora madeireira, muitas porções de terra começaram a ser ocupadas novamente por árvores, sendo seu interesse centrado no cultivo de espécies exóticas,

## ABSTRACT

This study was carried out to investigate the genetic variability of an aroeira population (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) in its best consortium form, starting from economic and available species of interest for plantation. The progenies test started in December 1992, at University farm located in Selvíria - MS. The experimental design was a randomized blocks in scheme split plot with 10 families from Petrolina - PE, and 7 plantation systems, with 3 replications. The spacing between rows of aroeira plants was 3.0 x 3.0 m, with or without other species in consortium. It was studied forestry and nutrition characters at four years and six months old after the plantation. Between the characters averages were obtained to experimental variation coefficient, genetic variation coefficient, and heritability at average level in the narrow sense, respectively of 14.80%, 4.54% and 0.63, showing the genetic potential of the population of studied aroeira. Plant heights and branch numbers were the best characters to species selection. Among the plantation systems it was verified the consortium involving canafistula and jerivá was the most promising to the aroeira.

Keywords: aroeira; genetic variation; plantation systems; quantitative characters.

devido à superioridade destas em relação às espécies nativas quanto ao desenvolvimento e uniformidade na matéria-prima obtida. Vale lembrar que a utilização de espécies nativas em reflorestamentos possibilita a manutenção de sua variabilidade, através de implantação e manejo de povoamentos puros e mistos, conservando espécies potenciais na forma *ex situ*, preservando dessa forma seu papel ecológico.

(1) Aceito para publicação em dezembro de 2002.

(2) Doutorando em Genética e Melhoramento Vegetal pela Faculdade de Ciências Agrárias de Jaboticabal/UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n, 14870-000, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: mfreitas@fcav.unesp.br

(3) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Departamento de Fitotecnia, Economia e Sociologia Rural, Av. Brasil, 56, 17800-000, Ilha Solteira, SP, Brasil. E-mail: teixeira@agr.feis.unesp.br

(4) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Departamento de Ciência do Solo e Engenharia Rural, Av. Brasil, 56, 17800-000, Ilha Solteira, SP, Brasil. E-mail: sbuzetti@agr.feis.unesp.br

O cultivo associado entre espécies visa conhecer os diferentes comportamentos entre elas, fazendo com que se chegue a um modelo de plantio consorciado favorável. Essa idéia pode ser observada a partir de conceitos preestabelecidos da linha de sucessão, proporcionando um melhor ganho na recomposição florestal. Destacam-se, entre as espécies arbóreas para a recomposição das florestas nativas, as pertencentes à família Anacardiaceae que são de ampla ocorrência no Brasil, possuindo aspectos econômicos como alimentação, paisagismo, extração de tanino e verniz, medicinal e madeireiro. Entre elas, pode-se citar a aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) (Santin, 1989), e por ser uma espécie de alto valor econômico, e sua presença ocorrer em quase todo o Brasil, tem sofrido, ano após ano, freqüente diminuição devido à retirada desordenada de suas árvores em seu habitat.

Economicamente, o plantio, visando à retirada em curto prazo da madeira da aroeira, pode não ser viável, porém o aumento das pesquisas nas áreas de ciências médicas, com plantas para produção de remédios, e o avanço do segmento ambiental vêm alterando significativamente a importância dessas espécies florestais nativas, permitindo que alcancem maior valorização, elevando seu preço no mercado.

Por ser alvo de trabalhos buscando uma utilização medicinal, difundir seu cultivo entre os agricultores seria uma maneira de manter ou mesmo incentivar a conservação das poucas árvores que existem nas propriedades. No caso de um plantio consorciado, seu retorno econômico torna-se mais rápido, pois o agricultor pode retirar vários produtos de uma mesma área, em épocas diferentes, levando ainda a uma diminuição nos gastos com o controle de pragas, doenças, invasoras e outros encargos que oneram o custo da produção agrícola, e que, por vezes inviabilizam qualquer tipo de cultivo.

Este trabalho teve por objetivos estudar a variação genética de uma população de aroeira através de um conjunto de caracteres quantitativos; verificar o desenvolvimento ocorrido nessa espécie dentro dos diferentes sistemas de produção, comparando-os a um estágio de sucessão, e propor alternativas de plantio para essa espécie arbórea entre os produtores rurais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de aroeira foram obtidas a partir de 10 árvores de polinização livre, procedentes do município de Petrolina - PE.

As sementes das espécies que participaram do plantio consorciado, candiúba (*Trema micrantha*), canafistula (*Peltophorum dubium*) e jerivá (*Syagrus romanzoffiana*), foram coletadas na região de Ilha Solteira - SP. As sementes de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) foram cedidas pelo Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais - IPEF, provenientes de uma área de produção de sementes em Restinga - SP.

O experimento foi instalado em 7 de dezembro de 1992, na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Faculdade de Engenharia - Campus de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), localizada no município de Selvíria - MS, em um solo do tipo Latossolo Vermelho-Escuro de textura argilosa. As progênes de aroeira, assim como as espécies pioneiras e não pioneiras utilizadas no experimento, foram plantadas no espaçamento de 3,0 x 3,0 metros. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas, tendo como parcelas 7 (sete) sistemas de plantio, denominados da seguinte forma: CA (aroeira x candiúba); EU (aroeira x eucalipto); CF (aroeira x canafistula); AS (aroeira x aroeira); CAJ (aroeira x candiúba x jerivá); EUJ (aroeira x eucalipto x jerivá); CFJ (aroeira x canafistula x jerivá), com 3 repetições. As subparcelas, de forma linear, foram constituídas por 10 (dez) famílias de aroeira, sendo que cada família foi representada por 6 (seis) plantas, em cada uma das repetições.

Os caracteres silviculturais avaliados aos quatro anos e seis meses após o plantio foram: (ALT) altura total (m), (DMC) diâmetro médio da copa (m), (FOR) forma do fuste, (NRA) número de ramificações em relação ao fuste principal, (DCA) densidade da casca ( $\text{g/cm}^3$ ) e (D30) diâmetro do fuste a 30 cm do solo (cm). Os caracteres nutricionais: (N) nitrogênio, (P) fósforo, (K) potássio, (Ca) cálcio, (Mg) magnésio e (S) enxofre, expressos em g/kg, nas folhas de aroeira, foram avaliados seguindo recomendações de Trani *et al.* (1983) e de Malavolta *et al.* (1997). As folhas utilizadas para a análise nutricional foram coletadas no sentido horário das direções cardinais (norte, leste, sul e oeste, sucessivamente) em uma proporção média semelhante para as quatro direções. As estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres quantitativos (silviculturais e nutricionais) foram avaliadas em nível de média e totais de parcelas, respectivamente, baseando-se em Vencovsky & Barriga (1992). As fontes de variação obedeceram a um modelo misto, tendo sistemas de plantio como efeito fixo e progênes (famílias) como efeito aleatório (TABELA 1).

FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T. de; BUZETTI, S. Variação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes sistemas de plantio.

TABELA 1 - Quadro de análise de variância com as fontes de variação (FV), os graus de liberdade (GL), esperanças dos quadrados médios [E(QM)] e quadrados médios testadores de F.

FV	GL	QM	E(QM)	F
Rep.	r - 1	Q <sub>1</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2 + p.\sigma_c^2 + p.s.\sigma_r^2$	Q <sub>1</sub> /Q <sub>3</sub>
Sist. de Plantio (S)	s - 1	Q <sub>2</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2 + p.\sigma_c^2 + r.k.\sigma_{ps}^2 + r.p.\frac{\sum s^2}{(s-1)}$	$\frac{(Q_2 + Q_6)}{(Q_3 + Q_5)}$
Erro (a)	(r - 1)(s - 1)	Q <sub>3</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2 + p.\sigma_c^2$	-
Prog. (P)	p - 1	Q <sub>4</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2 + r.s.\sigma_p^2$	Q <sub>4</sub> /Q <sub>6</sub>
P x S	(s - 1)(p - 1)	Q <sub>5</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2 + r.k.\sigma_{ps}^2$	Q <sub>5</sub> /Q <sub>6</sub>
Erro (b)	s(p - 1)(r - 1)	Q <sub>6</sub>	$(1/\bar{n}).\sigma_d^2 + \sigma_e^2$	-
Dentro	(n - 1)prs	Q <sub>7</sub>	$\sigma_d^2$	-

Onde: r = repetições; s = sistemas de plantio; p = progênies; k = [s/(s-1)];  $\sigma_e^2$  = variância do erro;  $\sigma_p^2$  = variância genética entre progênies;  $\sigma_{ps}^2$  = variância da interação P x S;  $\sigma_d^2$  = variância fenotípica dentro.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estimativas dos parâmetros obtidos da população de aroeira procedente de Petrolina-PE, avaliada aos quatro anos e seis meses de idade, para os caracteres silviculturais e nutricionais, são apresentadas na TABELA 2.

Os resultados obtidos para o coeficiente de variação experimental (CVexp) variaram de 7,3 a 23,9%, respectivamente, para os caracteres densidade da casca e cálcio, apresentando uma média de 14,80%, demonstrando resultados mais homogêneos e com maior precisão, principalmente para os caracteres densidade da casca e nitrogênio (7,3 e 7,9%, respectivamente). Ao comparar os resultados de CVexp com a literatura,

verifica-se semelhança com os trabalhos de Moraes (1992), o qual, avaliando 14 caracteres em duas populações de aroeira de 3,5 anos de idade, encontrou para cada população coeficientes de 15,3 e 14,6%. Moraes *et al.* (1992) também obtiveram resultados médios de altura de plantas próximos aos encontrados nesse trabalho (14,6 e 12,1%), em outra pesquisa, com duas populações de aroeira, aos 4 anos de idade. Sebbenn *et al.* (2000) obtiveram valores de CVexp no caráter altura, em jequitibá-rosa, variando entre 10,8 e 15,0%. Estudando a altura de planta em quatro populações de amendoim, com dados coletados do quinto ao décimo quinto ano após o plantio, Sebbenn *et al.* (1999) obtiveram um CVexp variando entre 18,5 e 23,3%.

TABELA 2 - Estimativas de médias, coeficiente de variação experimental (CVexp%) e de "F" para as fontes de variação: sistemas de plantio (S), progênie (P) e interação (P x S), para os caracteres silviculturais e nutricionais, em progênies de uma população natural de aroeira, em Selvíria-MS.

Sistemas de Plantio	Caracteres silviculturais						Caracteres nutricionais					
	ALT (m)	DMC (m)	FOR	NRA	D30 (cm)	DCA (g/cm <sup>3</sup> )	N (g/kg)	P (g/kg)	K (g/kg)	Ca (g/kg)	Mg (g/kg)	S (g/kg)
AS	2,85ab	2,24a	4,90 b	7,73a	4,34a	0,55a	25,0a	1,8a	13,2a	6,1a	2,8a	1,2a
CA	2,26 b	1,13 b	5,71ab	5,02 b	2,25 b	0,59a	26,7a	1,8a	14,8a	7,1a	3,4a	1,2a
CAJ	2,50 b	1,21 b	5,99a	4,64 b	2,42 b	0,59a	26,6a	1,9a	15,6a	7,1a	3,2a	1,2a
CF	3,60a	2,07a	6,41a	4,60 b	4,40a	0,62a	25,7a	1,9a	15,7a	9,0a	3,3a	1,3a
CFJ	3,62a	1,88a	6,50a	4,65 b	4,25a	0,57a	26,2a	1,9a	13,8a	8,1a	3,5a	1,2a
EU	3,00ab	2,21a	5,92ab	5,56ab	4,15a	0,63a	25,3a	1,7a	12,4a	6,8a	3,0a	1,1a
EUJ	2,90ab	2,24a	5,78 b	6,36ab	4,54a	0,59a	24,9a	1,8a	12,0a	7,7a	3,1a	1,2a
Média	2,96	1,86	5,90	5,51	3,76	0,59	25,8	1,8	13,9	7,4	3,2	1,2
CVexp(%)	12,35	14,89	9,41	21,75	13,53	7,26	7,95	15,38	17,31	23,98	18,56	15,23
F (S)	6,31**	15,23**	5,02**	5,18**	13,63**	1,07 <sup>ns</sup>	0,81 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>ns</sup>	1,63 <sup>ns</sup>	0,95 <sup>ns</sup>	1,26 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>
F (P)	5,55*	1,96**	3,76*	4,33**	2,34**	2,18**	3,48*	3,53*	2,84*	2,36**	3,44*	1,79 <sup>ns</sup>
F (P x S)	1,22 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>	1,26 <sup>ns</sup>	1,42 <sup>ns</sup>	0,79 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>	0,73 <sup>ns</sup>	0,99 <sup>ns</sup>	0,74 <sup>ns</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	0,91 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>

Sistemas de plantio: AS (aroeira x aroeira), CA (candiúba x aroeira), CAJ (candiúba x aroeira x jerivá), CF (candiúba x aroeira), CFJ (candiúba x aroeira x jerivá), EU (eucalipto x aroeira) e EUJ (eucalipto x aroeira x jerivá).

(\* e \*\*) Estimativas de F significativas em níveis de 5% e 1% de significância, respectivamente.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Para o caráter altura total da planta, o valor médio de 2,96 m constata que houve um Incremento Médio Anual (IMA) de 0,66 m. Resultados semelhantes foram observados por Nogueira (1977) e Lima *et al.* (1982), que encontraram IMA de 0,62 e 0,57 m, respectivamente. Por outro lado, Garrido (1981), Nogueira *et al.* (1982), Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (1986) e Moraes *et al.* (1992), este último trabalhando com um teste de progênie com duas populações, e Freitas *et al.* (1997) obtiveram, respectivamente, 1,07; 0,99; 1,28; 0,97 e 0,92, e 0,95 m de IMA. O resultado obtido nesse trabalho aparece como intermediário em relação aos ensaios verificados anteriormente, porém a aroeira, muitas vezes, pode apresentar crescimento inicial rasteiro. Em anos posteriores, seu crescimento pode ganhar uma verticalização. Essas observações parecem óbvias, mas o inverso também pode ocorrer, com um crescimento inicial rápido e uma diminuição na altura, no ano seguinte, devido à inclinação dos ramos, proporcionando assim uma formação de copa mais horizontal. Essa forma de crescimento pode ser causada pelos diferentes sistemas de plantio (puros e mistos) e os diferentes espaçamentos utilizados nesses sistemas entre as espécies consorciadas, provocando maior adensamento quanto maior o número de espécies por sistema de plantio, apresentando resultados com grandes diferenças na fase inicial de desenvolvimento. Ao analisar os caracteres silviculturais, pode-se observar que o CV<sub>exp</sub> baixo, apresentado para a forma do fuste (9,4%), e o mais alto, obtido pelo número de ramificações em relação ao fuste principal (21,7%), demonstram essa expansão e, conseqüentemente, horizontalização das plantas. Isso justifica a observação feita por diversos autores (Siqueira *et al.*, 1993, e Moraes, 1992) quanto à necessidade de se prolongar os estudos, obtendo-se dados mais concretos quanto à variabilidade genética das espécies.

Os resultados nutricionais obtidos na TABELA 2 assemelham-se aos de Moraes (1992) e aos de Mendonça *et al.* (1998), porém inferiores aos resultados alcançados por Barbosa (1994), sendo que estes autores analisaram as folhas da aroeira com menos de um ano de idade.

O comportamento das progênes quanto aos caracteres analisados pode ser verificado através dos resultados das estimativas do teste "F" das análises de variância (TABELA 2). Observa-se que ocorreu diferença significativa entre progênes para todos os caracteres, com exceção do enxofre.

Isso indica que as progênes apresentaram variabilidade genética tanto para a conservação genética como para o melhoramento genético. Em concordância entre os sistemas de plantio, foram detectadas diferenças significativas entre as progênes e os caracteres silviculturais, excetuando-se o caráter densidade da casca. Para os caracteres nutricionais, não foram detectadas diferenças significativas. A interação entre sistema de plantio e progênes não mostrou diferenças significativas para todos os caracteres, indicando que as progênes de aroeira tiveram um desempenho semelhante nos diversos sistemas.

Quanto às observações de campo, verifica-se que, entre os sistemas de plantio (TABELA 2), o consórcio entre aroeira, canafistula e jerivá, obteve o melhor desempenho, demonstrando um equilíbrio entre estas três espécies de diferentes ciclos de sucessão, cujas características de vegetação são representativas da região de plantio. Outro fator de relevância se refere à ocupação da área com o maior número de plantas por parcela e à consideração quanto às características silviculturais mais utilizadas comercialmente pela aroeira, que são basicamente a altura da planta, forma e diâmetro do fuste, fundamentais para a produção de mourão para cerca. Além disso, essas espécies em consórcio, freqüentemente, estavam com suas parcelas menos ocupadas por plantas invasoras, principalmente as de folha estreita, facilitando a limpeza e a manutenção da área, e diminuindo a competição entre as espécies cultivadas.

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos são apresentadas na TABELA 3. Verifica-se que o controle genético dos caracteres estudados, em média, foram baixos. Tal fato pode estar ligado à baixa idade de avaliação da aroeira (quatro anos e seis meses) e ao fato de a espécie alcançar idade mais avançada, sendo que, nesta etapa de desenvolvimento as árvores ainda não alcançaram a fase adulta por ainda não terem passado da fase juvenil para a reprodutiva. Para Kageyama (1980), apesar de existirem restrições para estimativas de parâmetros genéticos em idades precoces, em espécies florestais, muitas avaliações ocorrem em ensaios jovens, sendo importante o acompanhamento dos crescimentos até a idade adulta para maior entendimento do controle genético dos caracteres. Siqueira *et al.* (1993) constataram a necessidade de monitorar os caracteres e o comportamento dos parâmetros genéticos ao longo do ciclo de vida das espécies arbóreas nativas, para um melhor entendimento da estrutura genética intra e interpopulacional.

TABELA 3 - Estimativas de alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, para os caracteres quantitativos estudados na população de Petrolina-PE, estimados aos 4,5 anos de idade, em Selvíria-MS.

Caracteres	$b$	CV <sub>G</sub> (%)	CV <sub>F</sub> (%)	$\hat{h}^2$	CV <sub>F</sub> (%)	$\hat{h}_x^2$	CV <sub>D</sub> (%)	$\hat{h}_D^2$
ALT	0,46	5,7	28,2	0,17	6,4	0,79	26,9	0,14
DMC	0,21	3,2	26,1	0,06	4,3	0,54	23,6	0,05
D30	0,25	3,4	25,8	0,07	4,3	0,62	24,1	0,06
NRA	0,40	8,7	52,3	0,11	10,3	0,71	51,0	0,09
FOR	0,23	3,3	33,0	0,04	4,7	0,49	32,1	0,03
DCA	0,23	1,7	11,6	0,09	2,3	0,53	9,7	0,09
N	0,34	2,7	32,7	0,03	3,1	0,76	34,8	0,02
P	0,35	5,3	80,6	0,02	6,3	0,72	86,6	0,01
K	0,30	5,1	61,2	0,03	6,1	0,70	64,4	0,02
Ca	0,25	6,1	82,6	0,02	7,9	0,59	86,5	0,02
Mg	0,34	6,3	70,0	0,03	7,3	0,72	73,8	0,02
S	0,19	2,9	59,7	0,01	4,5	0,42	63,2	0,01
$\bar{X}$	0,30	4,5	47,0	0,06	5,6	0,63	48,1	0,05

Onde:  $b = CV_G/CV_{EXP}$  = “quociente de seleção”; CV<sub>G</sub>: coef. var. genético; CV<sub>F</sub>: coef. var. fenotípico;  $\hat{h}^2$ : herdabilidade, em nível de plantas; CV<sub>F</sub>: coef. var. fenotípico, em nível de média de progênies;  $\hat{h}_x^2$ : herdabilidade, em nível de média de parcelas; CV<sub>D</sub>: coef. var. fenotípico dentro de progênies;  $\hat{h}_D^2$ : herdabilidade, em nível de plantas dentro de parcelas.

Para os dados obtidos para “quociente de seleção” (Vencovsky, 1987), verifica-se que este variou de 0,19 a 0,46, para os caracteres enxofre e altura da planta, respectivamente, com média geral de 0,30, indicando que o caráter altura seria o mais recomendado à seleção.

O valor médio obtido dos caracteres estudados para o coeficiente de variação genético (CV<sub>G</sub>) foi de 4,5%. Para a altura da planta, o valor estimado foi de 5,7%, o qual é inferior aos obtidos por Siqueira (1995), de 6,4%, mas superior aos estimados por Moraes *et al.* (1992), que obtiveram, em duas populações de aroeira, 3,3 e 3,1%, respectivamente. O mesmo ocorreu nos trabalhos realizados por Etori *et al.* (1996), em que ficou evidenciada uma baixa variação entre progênies e o caráter altura de plantas, em duas procedências de ipê-roxo (2,0 e 4,2%, respectivamente). Resultados intermediários foram obtidos por Siqueira *et al.* (2000)

em um estudo de três populações de pau-marfim, em dois locais de plantio, com médias de CV<sub>G</sub> entre 3,4 e 9,2%. Siqueira *et al.* (1993) obtiveram resultados superiores, entre 5,0 e 14,3%, para o cumbaru, no caráter altura, em diferentes locais de ensaio. Os autores também observaram que o CV<sub>G</sub> tendia a decrescer com a idade. Valores superiores também foram encontrados por outros autores, como no trabalho de Sampaio & Venturieri (1990), onde os dados de altura resultaram em um CV<sub>G</sub> de 30,6% para *Copaifera multijuga*, 27,5% para *Hymenaea courbaril*, 16,9% para *Apuleia leiocarpa* e 23,5% para *Hymenolobium* sp., sendo as duas primeiras espécies classificadas como secundárias tardias. Os altos CV<sub>G</sub> observados em espécies arbóreas nativas, possivelmente, estão associados ao fato de tratar-se de material genético não selecionado, e a variação genética detectada representa a variação existente em populações naturais.

A expressão da variação entre plantas dentro de progênies, determinada pelo coeficiente de variação fenotípica dentro de progênies ( $CV_D$ ), apresentou valor médio de 48,1%, sendo que o menor valor foi de 9,7% e o maior valor de 86,6%, respectivamente, para os caracteres densidade da casca e fósforo. Este coeficiente, em conjunto com o  $CV_G$ , e os resultados do teste F demonstram o grande valor do material estudado quanto à variação genética. Os resultados médios obtidos nesse trabalho, apresentado para os caracteres estudados, são superiores, quando comparados ao trabalho de Moraes (1992), analisando diversos caracteres em duas populações de aroeira (22,8 e 24,7%). Para a análise de altura da planta, o  $CV_D$  foi de 26,9%, apresentando-se como intermediário em relação aos resultados observados por diversos autores. Siqueira *et al.* (1993) obtiveram para a altura de plantas, em cumbaru,  $CV_D$  variando de 13,8 a 49,2%. Etori *et al.* (1996), analisando a altura em ipê-roxo, obtiveram  $CV_D$  médio de 16,2 e 20,6%, respectivamente, para dois locais de estudo. Valores inferiores e superiores encontram-se citados por Sampaio & Venturieri (1990) para altura de *C. multijuga*, *H. courbaril*, *A. leiocarpa* e *Hymenolobium* sp., que variaram de 21,0 a 38,9%. Vitti *et al.* (1992) obtiveram  $CV_D$  médio de 32,9% para altura de três populações de *Esenbeckia leiocarpa*. Kageyama *et al.* (1992), analisando a variância de diferentes grupos sucessionais, observaram, aos dois anos, para a altura da planta,  $CV_D$  variando de 13,3 a 40,7%; para o diâmetro da base, os dados variaram de 4,9 a 42,1%; e para o diâmetro da copa, os dados variaram entre 27,2 e 40,0. Sebbenn *et al.* (1998) observaram  $CV_D$  de altura em cabreúva variando entre 28,4 e 71,7%. Portanto, os resultados desse trabalho encontram-se dentro do observado para a grande maioria dos estudos conduzidos.

A herdabilidade, em nível de média de parcelas ( $\hat{h}_x^2$ ), foi alta e superior em nível de plantas ( $\hat{h}^2$ ), e em nível de plantas dentro de parcelas ( $\hat{h}_D^2$ ). A média de herdabilidade de 0,06, em nível de planta, é baixa, sugerindo que o controle genético é fraco neste nível, desencorajando a seleção massal como estratégia para o melhoramento genético da espécie. O resultado obtido para o caráter altura de planta (0,17) confirma essa previsão, pois não foi representativo o bastante para aplicar-se um estudo mais apurado de melhoramento com base em seleção massal.

Moraes *et al.* (1992) também observaram baixos valores de herdabilidade em nível de planta para a altura (0,08 e 0,07). Siqueira (1995) estimou valor superior (0,26), que coloca o resultado obtido nesse trabalho como intermediário. Outras espécies florestais apresentam, para o caráter altura, herdabilidade variando entre 0,13 a 0,70 para procedências de cumbaru (Siqueira *et al.*, 1993); 0,05 a 0,09 para duas procedências de ipê-roxo (Etori *et al.*, 1996); e variação de 0,68 a 0,85 para três procedências de *E. leiocarpa* (Vitti *et al.*, 1992). Resultados intermediários foram encontrados por Siqueira *et al.* (2000), que variaram entre 0,14 e 0,18 para três populações de pau-marfim, o mesmo ocorrendo para os dados de cabreúva obtidos por Sebbenn *et al.* (1998), que variaram entre 0,13 e 0,26.

A média de 0,63 obtida para a herdabilidade, em nível de média de parcelas, foi superior à encontrada por Moraes (1992), de 0,24 e 0,18, respectivamente, para 2 populações de aroeira. O mesmo aconteceu para a análise individual do caráter altura, em que o autor obteve valores médios de 0,09 e 0,24; e Moraes *et al.* (1992) obtiveram médias de herdabilidade de altura de 0,13 e 0,16, respectivamente, para duas populações. Outras pesquisas com espécies nativas apresentaram valores inferiores, como no trabalho de Siqueira *et al.* (2000) e Sebbenn *et al.* (2000) para os diversos anos, para as diferentes populações estudadas de aroeira.

Verificou-se uma média para os caracteres estudados de 0,05 para a herdabilidade, em nível de plantas dentro de parcelas. Valor superior foi encontrado por Moraes (1992) com duas populações de aroeira de 0,16 e 0,10. Ao comparar-se o caráter altura, os valores aproximam-se, sendo que, nesse trabalho, a média foi de 0,14, e a apresentada por Moraes (1992) e Moraes *et al.* (1992) foi de 0,05 e 0,09, e 0,09 e 0,06, respectivamente, para as duas populações de aroeira. Para Siqueira *et al.* (2000) e Sebbenn *et al.* (2000), que trabalharam, respectivamente, com pau-marfim e jequitibá-rosa, os valores médios para a altura total de plantas são semelhantes para os diversos anos, para as diferentes populações estudadas.

Esses resultados demonstram que a seleção, com base na herdabilidade, em nível de média de parcelas, deve ser mais efetiva que nos demais níveis. O controle genético dos caracteres, em nível de média de progênies, foi alto, demonstrando que tal fato não foi prejudicado pela utilização de um número reduzido de progênies (dez), sendo o que fora conseguido para esse estudo. Nessas condições, torna-se possível trabalhar o melhoramento visando à seleção com base nas progênies dessa população.

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que existe variabilidade genética na população de aroeira procedente de Petrolina - PE, e plantada em Selvíria - MS. A alta variabilidade indica que o material tem potencial tanto para a conservação como para o melhoramento genético.

O desempenho das progênies foi semelhante nos diferentes sistemas de plantio estudados; entretanto, o consórcio envolvendo canafístula e jerivá, foi o que se destacou, devido a sua melhor ocupação da área e desenvolvimento das plantas cultivadas.

Entre os caracteres que mais se destacaram para uma eventual seleção, têm-se a altura de plantas e o número de ramos em relação ao tronco principal.

Os caracteres altura total da planta e nitrogênio foram os que apresentaram os maiores valores de herdabilidade, demonstrando alto controle genético e também potencial para a seleção desses caracteres.

#### 5 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo auxílio na forma de Bolsa e custeio no desenvolvimento da pesquisa, sendo que, sem ela, este trabalho não seria realizado.

Aos pesquisadores Visêlto Ribeiro de Oliveira e Marcos Drumond (CPATSA/EMBRAPA), pelo fornecimento das sementes de aroeira.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, Z. **Efeito do fósforo e do zinco na nutrição e crescimento de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (aroeira do sertão)**. 1994. 105 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

ETTORI, L. C. *et al.* Variabilidade genética em populações de ipê-roxo - *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Tol. - para conservação *ex situ*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 61-70, 1996.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Databook on endangered tree and shrub species and provenances**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1986. p. 116-25.

FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T. de. Variação genética em progênies de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) em diferentes sistemas de plantio. I. Avaliação da altura. **Rev. Bras. Genét.**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 3, p. 176, 1997.

GARRIDO, M. A. de O. **Caracteres silviculturais e conteúdo de nutrientes no folheto de alguns povoamentos puros e mistos de espécies nativas**. 1981. 118 f. Dissertação (Mestrado e Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

KAGEYAMA, P. Y. **Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden**. 1980. 125 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

\_\_\_\_\_. *et al.* Consórcio de espécies nativas de diferentes grupos sucessionais em Teodoro Sampaio, SP. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: UNIPRESS, 1992. p. 527-33. (Rev. Inst. Flor., São Paulo, v. 4, n. único, pt. 2, Edição especial).

LIMA, P. C.; SOUZA, S. M.; DRUMOND, M. A. Competição de espécies florestais nativas em Petrolina - PE. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 1982, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: UNIPRESS, 1982. p. 1139-48. (Silvic. S. Paulo, São Paulo, v. 16A, pt. 2, Edição especial).

MALAVOLTA, E.; VITTI, E. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 201 p.

MENDONÇA, A. V. R. *et al.* Teores foliares de mudas de aroeira em função da relação Ca:Mg. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., 1998, Caxambu. **Anais...** [S.l.]: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, FERTBIO, 1998. p. 366.

FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T. de; BUZETTI, S. Variação genética em progênes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes sistemas de plantio.

MORAES, M. L. T. de. **Variabilidade genética por isoenzimas e caracteres quantitativos em duas populações naturais de aroeira *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae (Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler)**. 1992. 139 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

\_\_\_\_\_. *et al.* Variação genética em duas populações de aroeira (*Astronium urundeuva*-(Fr. All). Engl-Anacardiaceae). **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 1, p. 1241-5, 1992.

NOGUEIRA, J. C. B. **Reflorestamento heterogêneo com essências indígenas**. São Paulo: Instituto Florestal, 1977. 77 p. (Bol. Técn. IF, 24).

\_\_\_\_\_. *et al.* Conservação genética de essências nativas através de ensaios de progênie/procedência. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 1982, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: UNIPRESS, 1982. p. 957-69. (Silvic. S. Paulo, São Paulo, v. 16A, pt. 2, Edição especial).

SAMPAIO, P. T. B., VENTURIERI, G. A. Variação entre e dentro de progênes de quatro leguminosas: *Copaifera multijuga* Hayne; *Hymenaea courbaril* Linn; *Apuleia leiocarpa* e *Hymenolobium* sp. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., 1990, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: SBS/SBEF, 1990. p. 633-5.

SANTIN, D. A. **Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e revalidação do gênero *Myracrodruon* FR. ALLEM. (Anacardiaceae)**. 1989. 178 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SEBBENN, A. M. *et al.* Parâmetros genéticos na conservação de cabreúva - *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 53, p. 31-8, 1998.

SEBBENN, A. M. *et al.* Variação genética entre e dentro de populações de amendoim - *Pterogyne nitens*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 56, p. 29-40, 1999.

SEBBENN, A. M. *et al.* Variabilidade genética e interação genótipos X locais em jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 13-23, 2000.

SIQUEIRA, A. C. M. De F. **Conservação dos recursos genéticos de essências nativas**. [S.l.]: [s.n.], 1995. (Relatório CNPq de Bolsa Pesquisa).

SIQUEIRA, A. C. M. De F. *et al.* Conservação dos recursos genéticos *ex situ* do Cumbaru (*Dipteryx alata*) Vog. - Leguminosae. **Rev. Inst. Flor.**, v. 5, n. 2, p. 231-43, 1993.

SIQUEIRA, A. C. M. De F. *et al.* Variação genética entre e dentro de populações de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) para conservação *ex situ* **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 89-103, 2000.

TRANI, P. E., HIROCE, R., BATAGLIA, O. C. **Análise foliar: amostragem e interpretação**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 19 p.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção de milho**. Piracicaba: Fundação Cargill, 1987. p. 137-214.

\_\_\_\_\_; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VITTI, A. P. *et al.* Estrutura genética em populações de *Cecropia cinerea* e *Esenbeckia leiocarpa* plantadas segundo a sucessão secundária. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: UNIPRESS, 1992. p. 1209-12. (Rev. Inst. Flor., São Paulo, v. 4, n. único, pt. 4, Edição especial).



## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

### 1 REVISTA DO INSTITUTO FLORESTAL (Rev. Inst. Flor.)

Publicação semestral do Instituto Florestal, destinada à veiculação de artigos técnico-científicos, notas científicas e artigos de revisão em ciências florestais e afins.

#### 1.1 Encaminhamento e Apresentação do Original

Os trabalhos externos à Instituição deverão ser encaminhados ao Presidente da Comissão Editorial, Caixa Postal 1322, 01059-970 São Paulo - SP - Brasil; os trabalhos internos à Instituição deverão ser encaminhados ao chefe imediato e ao diretor da divisão à qual pertencem que, após análise, enviará à Comissão Editorial. Os trabalhos deverão ser encaminhados em 4 (quatro) vias (1 original e 3 cópias), respeitando-se as margens superior e inferior de 20 mm x 20 mm e as margens laterais esquerda de 30 mm e direita de 20 mm.

Serão analisados pela Comissão Editorial e, após a análise, encaminhados ao(s) autor(es) para atendimento das sugestões apresentadas. Procedidas as modificações sugeridas, o(s) autor(es) deverá(ão) enviar 2 (duas) vias (1 original e 1 cópia) da versão final do artigo, acompanhadas do disquete correspondente digitado no aplicativo "Word for Windows", fonte Times New Roman tamanho 11, em espaço duplo, respeitando as margens anteriormente citadas.

Deverão obedecer a seguinte ordem: **TÍTULO** do trabalho em caixa alta, seguido do título na língua do **ABSTRACT**; **RESUMO** e **ABSTRACT** seguidos de Palavras-chave e Key words; **INTRODUÇÃO**; **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** (que dependendo do(s) autor(es) pode ser incluída na **INTRODUÇÃO**); **MATERIAL(AIS) E MÉTODOS(S)**; **RESULTADOS**; **DISCUSSÃO** (a critério dos autores os resultados e a discussão podem ser incluídos em um único item, identificado como **RESULTADOS E DISCUSSÃO**); **CONCLUSÃO(ÕES)**; **AGRADECIMENTO(S)** (se houver) e **REFERÊNCIA(S) BIBLIOGRÁFICA(S)**.

A identificação, filiação e endereço dos autores não deverão ser incluídos no corpo do texto, mas sim em uma página em separado que acompanhará o manuscrito.

#### 1.2 Ilustrações

São consideradas ilustrações as **FIGURAS**, **TABELAS** e **QUADROS**. Deverão ser citadas no texto e não incluídas no corpo do mesmo, mas sim em folhas, em separado, que acompanharão o manuscrito. O(s) autor(es) deve(m) indicar qual o lugar mais apropriado para a inserção das ilustrações no texto, através da citação "local da figura/tabela/quadro nº". Exemplos: "local da figura 1"; "local do quadro 3"; "local da tabela 2".

**1.2.1** As **FIGURAS** (mapas, gráficos, fotos, desenhos) deverão ser numeradas contínua e seqüencialmente com algarismos arábicos e título auto-explicativo abaixo, deverão ainda ser elaboradas a partir de softwares compatíveis com o Windows 98, tais como: Corel Draw, Excel, etc. O uso de escala é obrigatório, e constará juntamente com a legenda (se houver), na própria figura. As fotos deverão ser de boa qualidade, acompanhadas dos negativos ou em disquete.

**1.2.2** **TABELAS** e **QUADROS** deverão ser numerados consecutivamente com algarismos arábicos, encabeçados e citados como **TABELAS** ou **QUADROS** com título auto-explicativo acima, sendo a numeração distinta daquela das figuras. Quando se tratar de **TABELA**, as linhas horizontais só aparecerão separando o título do conteúdo e no final da mesma; evitar tabelas muito extensas.

**1.2.3** O tamanho máximo das ilustrações deverá ser de 215 mm x 170 mm, incluindo o título e a fonte (se houver). Caso seja necessário reduzir o original, calcular a redução de acordo com o tamanho da página impressa para que não haja perda na nitidez.

#### 1.3 Citação da Literatura no Texto

Deverá ser feita na forma de **AUTOR** (em caixa alta/baixa) e **ANO** entre parênteses. Quando houver mais de dois autores usar *et al.*

#### 1.4 Referência Bibliográfica

Deverá ser apresentada em ordem alfabética pelo sobrenome do autor ou do primeiro autor, sem numeração (consultar ABNT - NBR 6023 - 2000). Quando houver vários artigos do(s) mesmo(s) autor(es), obedecer a ordem cronológica crescente; quando houver vários artigos do mesmo ano, indicar: 1988a, 1988b, etc., e quando houver quatro ou mais autores usar *et al.*

##### 1.4.1 Monografias (livros, dissertações, teses, manuais, folhetos, etc.)

AUTOR(ES)//Título: subtítulo (se houver)//edição//Local da publicação: Editora, ano da publicação//total de páginas e/ou volumes//ilustração//(série ou coleção, nº).

###### 1.4.1.1 Livros

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYER, A. **The germination of seeds**. 4. ed. Great Britain: Pergamon Press, 1989. 270 p.

###### 1.4.1.1.1 Autor entidade

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNTA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

###### 1.4.1.1.2 Capítulo ou parte de livro

AUTOR(ES) do capítulo/parte//Título do capítulo/parte//In: AUTOR(ES) do livro. (Coord./Org./Ed.)//Título do livro: subtítulo (se houver)//Local da publicação: Editora, ano da publicação//cap., página inicial-final.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília, DF: ABRATES, 1993. cap. 4, p. 137-174.

###### 1.4.1.2 Dissertações, Teses

AUTOR//Título da dissertação/tese//ano da publicação//total de folhas//Dissertação/Tese (Mestrado/Doutorado em...) - Instituto, Faculdade, Universidade, Local da publicação.

VALLILO, M. I. **Caracterização das folhas e galhos do *Croton floribundus* Spreng. (Euphorbiaceae) e respectivo solo, por espectrometria de emissão com plasma de argônio induzido**. 1995. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

#### 1.4.2 Periódicos (revistas, suplementos, jornais, etc.)

##### 1.4.2.1 Artigo de periódico

AUTOR(ES)//Título do artigo//Título do periódico, Local da publicação, volume, número do fascículo, página inicial-final, ano da publicação//(Artigos aprovados pelo corpo editorial do periódico, mas ainda não publicados, devem incluir no final da referência, entre parênteses, a expressão "No prelo").

SEBBENN, A. M. *et al.* Variabilidade genética e interação genótipo x locais em jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 13-23, 2000. (No prelo).

#### 1.4.2.2 Coleção no todo

**TÍTULO DO PERIÓDICO**//Local da publicação: Editora, ano da publicação do primeiro volume e ano de encerramento da publicação (se houver)//Periodicidade.

REVISTA BRASILEIRA DE GEOGRAFIA. Rio de Janeiro: IBGE, 1939-. Quadrimestral.

#### 1.4.2.3 Fascículos, suplementos, números especiais

**TÍTULO DA COLEÇÃO**//Título da parte (se houver)//Local da publicação: Editora, volume, número, ano de publicação//total de páginas//Suplemento/Edição especial.

CONJUNTURA ECONÔMICA. As 500 maiores empresas do Brasil. Rio de Janeiro: FGV, v. 38, n. 9, 1984. 135 p. Edição especial.

#### 1.4.2.4 Artigos em jornais

**AUTOR(ES)** (se houver)//Título do artigo: subtítulo (se houver)//Título do jornal, Local da publicação, data da publicação, Seção, Caderno, Suplemento, número da página do artigo.

BIBLIOTECA climatiza seu acervo. *O Globo*, Rio de Janeiro, 4 mar. 1985. p. 11.

#### 1.4.2.5 Resumo em "abstracts"

**AUTOR(ES)**//Título do resumo//Título do periódico, Local da publicação do periódico, volume, número do fascículo, página inicial-final, ano da publicação do periódico//(Resumo número em Título do "abstract", Local da publicação do "abstract", volume, número do fascículo, página inicial-final, ano da publicação do "abstract").

KATOH, M. Classification of conifer trees species using JERS-1 OPS data. *Journal of Forest Planning*, England, v. 1, n. 1, p. 1-5, 1995. (Resumo 9432 em *Forestry Abstracts*, Oxon, v. 58, n. 12, p. 1361, 1997).

#### 1.4.3 Congressos, simpósios, seminários, conferências

**AUTOR(ES)**//Título do trabalho apresentado//In: Coord./Org. (se houver)//TÍTULO DO EVENTO, numeração do evento (se houver), ano do evento, Local do evento//Título da publicação//Local da publicação: Editora, ano da publicação//página inicial-final. (Quando necessário, ao final da referência acrescentar notas relativas a outras informações para melhor identificar o trabalho).

##### 1.4.3.1 Trabalho apresentado e publicado sob forma de resumo

MARCHIORI, C. F. S.; SILVA, M. R.; SILVA, T. R. G. Estudo da germinação e desenvolvimento de plântulas de espécies arbóreas nativas de matas do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, XI, 1996, São Carlos. *Programa e Resumos...* São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Botânica, 1996. p. 43.

##### 1.4.3.2 Trabalho apresentado e publicado em Anais

PASTORE, J. A. *et al.* Flora arbustiva do Parque Chico Mendes, município de São Bernardo do Campo (SP). In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. *Anais...* São Paulo: UNIPRESS, 1992. p. 269-273. (Rev. Inst. Flor., São Paulo, v. 4, n. único, pt. 1, Edição especial).

##### 1.4.3.3 Trabalho apresentado e publicado em seriado

MÁRQUEZ, F. C. M.; KAGEYAMA, P. Y. Purity testing in *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus saligna* seeds: new methodologies. In: REUNIÓN SOBRE PROBLEMAS EN SEMILLAS FORESTALES TROPICALES, 1980, San Felipe-Bacalar. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, 1981. tomo 1, p. 243-246. (Publicación Especial, 35).

#### 1.4.4 Legislação

**JURISDIÇÃO**//Título e número da lei/decreto/outros, data//Ementa//Dados da publicação, outras informações necessárias para melhor identificar o documento.

BRASIL. Lei nº 7.653, de 12 de fevereiro de 1988. Altera a redação dos arts. 18, 27, 33 e 34 da Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967, que dispõe sobre a proteção à fauna, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 17 fev. 1988. Seção I, p. 26-89.

#### 1.4.5 Mapas

**AUTOR(ES)** (se houver)//Título do mapa//Local da publicação: Editora (se houver), ano de publicação//Escala.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. *Mapa da vegetação do Brasil*. Rio de Janeiro: IBGE, 1998. Escala 1:5.000.000.

#### 1.4.6 Relatórios técnicos

**AUTOR(ES)** (se houver)//Título do relatório//Local da publicação: Editora, ano da publicação//total de páginas//(Acrescentar ao final da referência notas relativas a outras informações para melhor identificar o relatório).

CASTRO, M. C.; GOMES, G.; VIANA, L. A. C. *Cooperação técnica na implementação do Programa Integrado de Desenvolvimento - Polonordeste*. Brasília, DF: PNUD/FAO, 1990. 47 p. (Relatório da Missão de Avaliação do Projeto BRA/87/037).

#### 1.4.7 CD-ROM

**AUTOR(ES)**//Título: subtítulo (se houver)//Local: Produtora, ano da gravação//total de CD-ROMS//Software necessário.

INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. *Mata Atlântica - 500 anos*. [S.l.]: Estação da Arte Ltda., 2000. 1 CD-ROM. Windows 95 ou superior.

#### 1.4.8 Seriado

**AUTOR(ES)**//Título do artigo: subtítulo (se houver)//Local da publicação: Editora, ano da publicação//total de páginas//(Título do seriado, nº).

DIÁZ, G. E.; BROWN, T. C. *AQUARIUS: a modeling system for river basin water allocation*. Fort Collins: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, 1997. 160 p. (General Technical Report RM-GTR, 299).

## 2 INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS

Para maiores esclarecimentos sobre a organização dos trabalhos especialmente quanto à colocação de títulos e subtítulos, subdivisão do texto, organização de tabelas e figuras, consultar o número mais recente da revista. Os casos omissos serão resolvidos pela COMISSÃO EDITORIAL.



INSTITUTO  
FLORESTAL

SECRETARIA DO  
MEIO AMBIENTE



GOVERNO DO ESTADO DE  
**SÃO PAULO**