

ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE JEQUITIBÁ-ROSA
(*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.) POR CARACTERES QUANTITATIVOS E ISOENZIMAS*

Alexandre Magno SEBBENN**
Paulo Yoshio KAGEYAMA***
Antonio Carlos Scatena ZANATTO**

RESUMO

Este trabalho analisa a estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.), a partir de quatro caracteres quantitativos e 14 locos isoenzimáticos, avaliado aos 17 anos de idade. O ensaio foi implantado em dois locais do Estado de São Paulo utilizando o delineamento de blocos de famílias compactas, com o objetivo da conservação genética *ex situ*. A análise da estrutura das populações mostrou, tanto para os caracteres quantitativos como para as isoenzimas, baixa divergência entre as populações e que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro das populações, em especial entre indivíduos dentro de progênies. Contudo, comparando por isoenzimas as populações do Estado de São Paulo com duas populações do Estado do Espírito Santo, observou-se alta divergência genética (9,3%), sugerindo a hipótese de isolamento por distância. A análise de variância revelou moderados níveis de variabilidade genética entre progênies/população, para as três populações mostrando a possibilidade de ganhos com a seleção. As heterozigosidades foram altas e similares entre as populações (\hat{H} variou de 0,263 a 0,283 e \hat{H} de 0,348 a 0,366). Apesar disso, foram detectados excessos de homozigotos nas progênies, em relação ao esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) (\hat{f} variando de 0,220 a 0,249). Finalmente, a relação entre o tamanho efetivo e o tamanho amostral (\hat{N}_e/n) foi 36% (0,16) menor do que esperado em uma população ideal (0,25), portanto, a variabilidade genética retida no banco *ex situ* é menor do que a esperada em populações grandes e panmíticas.

Palavras-chave: *Cariniana legalis*; estrutura genética; teste de progênies e populações; eletroforese de isoenzimas; conservação genética *ex situ*.

ABSTRACT

This work analyses the genetic structure of 17-year-old jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.) populations in two locations in São Paulo State, with the purpose of evaluating this *ex situ* conservation genetic method. The material in a compact family block design was evaluated for 4 quantitative traits and 14 isoenzyme loci. Quantitative trait and isoenzymes analysis indicated only a few differences among populations. There was a larger proportion of genetic variability within populations, especially among individuals within of families. However, comparing isoenzyme patterns in São Paulo State and Espírito Santo State populations, larger genetic divergences were observed (9.3%), suggesting isolation by distance. Analysis of variance revealed moderate levels of genetic variability among families/population, for three populations. Even so, isoenzymes showed high and similar heterozygosity for three populations (\hat{H} : 0.263 to 0.283; \hat{H} : of 0.348 to 0.366). Excess homozygosity within families was detected, in relation to expected Hardy-Weinberg Equilibrium (EHW) (\hat{f} : 0.220 to 0.249). Finally, the relation between number effective size and sample size (\hat{N}_e/n) was 36% (0.16) smaller than expected in an ideal population (0.25), therefore, the genetic variability retain in *ex situ* bank is small than expected from large panmictic populations.

Key words: *Cariniana legalis*; genetic structure; tree genetics; population genetic divergence; isoenzymes electrophoresis; *ex situ* genetic conservation.

(*) Aceito para publicação em agosto de 2001.

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

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

1 INTRODUÇÃO

Cariniana legalis (Mart.) O. Ktze. ou jequitibá-rosa é uma das maiores árvores da floresta tropical úmida da América do Sul, chegando a atingir diâmetros superiores a 3 metros e alturas superiores a 40 metros. A espécie ocorre somente no Brasil, tendo distribuição ampla, indo do Estado de São Paulo ao Estado de Pernambuco. Costuma ocorrer em pequenos grupos isolados, possivelmente se constituindo de unidades panmíticas ou demes, estruturadas em famílias. Apesar de ser possível detectar vários exemplares de *C. legalis* em seus locais de ocorrência natural, quando se considera sua área total de distribuição, verifica-se que a espécie é do tipo rara, com menos de um indivíduo por hectare. No entanto, a intensa devastação das florestas brasileiras, principalmente durante o século XX, reduziram a espécie a algumas populações e indivíduos isolados em áreas de preservação permanente, estações ecológicas e parques públicos, levando *C. legalis*, já na década de 80, a entrar para a lista das espécies em extinção da FAO (Siqueira *et al.*, 1986). Apesar disso, muito pouco tem sido feito para salvar a espécie da extinção.

O entendimento da estrutura genética ou da distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações de uma espécie é de fundamental importância quando se pretende sua manipulação genética. Esta estrutura pode ser manifestada entre distintas populações geográficas, dentro de um grupo local de plantas ou mesmo em grupos de progênies (Loveless & Hamrick, 1984). A estrutura genética pode ser definida como a distribuição não aleatória de alelos e genótipos (Hamrick, 1987). O desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética ocorrem devido às interações de um conjunto complexo de fatores evolucionários, tais como distribuição espacial dos genótipos, sistema de reprodução, seleção, deriva genética, mutação, migração e processos de crescimento, mortalidade e reposição dos indivíduos nas populações (Clegg *et al.*, 1978; Hamrick, 1983; Loveless & Hamrick, 1984). De importância primária é a seleção, o tamanho efetivo populacional e a habilidade da espécie de dispersar pólen e sementes (Hamrick, 1983).

Estudos com isoenzimas têm mostrado que, em média, espécies arbóreas alógamas apresentam

baixa divergência genética entre populações (< 5%). Por outro lado, estudos com caracteres quantitativos têm evidenciado maior diferenciação genética entre populações do que as isoenzimas (Hamrick, 1983). Também se observam grandes variações nos resultados de um caráter para outro (Hamrick, 1983; Sebbenn *et al.*, 1999), indicando que alguns caracteres morfológicos divergem mais entre populações do que outros e que a pressão de seleção é diferente para os caracteres. Existem evidências de que tais caracteres são os responsáveis pela adaptação das espécies às condições ambientais locais (Hamrick, 1983).

A comparação da divergência genética medida por caracteres quantitativos (θ_P') com a medida por locos isoenzimáticos (θ_P) permite testar a hipótese de divergência seletiva ou, em outros termos, se a divergência genética entre as populações foi causada por seleção e/ou deriva genética (Wright, 1951; Lande, 1992). A seleção divergente pode estar envolvida na divergência observada quando θ_P' é significativamente maior que θ_P . Se θ_P' é de mesma magnitude a θ_P ou significativamente menor do que θ_P , a hipótese de que a variância entre populações é causada pela deriva genética, não pode ser rejeitada ou a seleção convergente pode estar envolvida como uma causa da redução da diferenciação (Yang *et al.*, 1996).

Este estudo objetiva comparar a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações de *Cariniana legalis* sob conservação genética *ex situ*, no Instituto Florestal de São Paulo por caracteres quantitativos e isoenzimas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Locais de Estudo e Delineamento Experimental

No ano de 1981 foram coletadas sementes de polinização aberta de *C. legalis*, em três populações naturais do Estado de São Paulo: Campinas (Bosque dos Jequitibás - 22°55'S, 47°03'W, alt. 652 m a 681 m, área \cong 10 ha), Piracicaba (Estação Ecológica de Ibicatu - 22°47'S, 47°49'W, alt. 500 m, área \cong 76 ha) e Santa Rita do Passa Quatro (Parque Estadual de Vassununga - 21°41'S, 47°39'W, alt. de 520 m a 700 m, área \cong 191,0 ha),

sendo tais populações denominadas Campinas, Ibicatu e Vassununga, respectivamente. Na população Campinas foram coletadas sementes de 17 matrizes, na Ibicatu de 16 matrizes e na Vassununga de 22 matrizes. Em 1982 as progênies foram plantadas na Estação Experimental de Pederneiras (22°22'S, 48°44'W, alt. 500 m, precipitação média anual de 1.112 mm, solo do tipo Latossolo Amarelo, fase arenosa e clima do tipo Cwa) e Estação Experimental de Luiz Antonio (21°40'S, 47°49'W, alt. 550 m, precipitação média anual de 1.280 mm, solo do tipo Latossolo Roxo e clima do tipo Cwa).

O delineamento adotado foi o de blocos de famílias compactas, com 6 repetições, subparcelas lineares com 5 plantas e uma bordadura externa de duas linhas. Contudo, devido ao pequeno número de mudas produzidas em 5 progênies da população Vassununga, em Pederneiras, esta população foi representada por 22 progênies e em Luiz Antonio por 17. O espaçamento utilizado nos dois ensaios foi 3,0 x 2,0 m e em Luiz Antonio foi realizada uma desrama, na idade de 8 anos (1990).

2.2 Amostragem

Os ensaios foram avaliados aos 17 anos de idade (1999) para quatro caracteres quantitativos e quatorze locos isoenzimáticos. Os caracteres avaliados foram: forma do fuste (FF), altura total (ALT), diâmetro à altura do peito (DAP) e volume cilíndrico (VC). As isoenzimas foram avaliadas no ano de 1999 em tecidos foliares de 1.232 árvores (39,1%), no total dos dois ensaios. Em cada ensaio foram selecionadas as 30 árvores superiores e as 30 inferiores de cada população, para DAP, utilizando-se o índice de seleção multiefeito (Resende & Higa, 1994), totalizando 360 árvores (180 superiores + 180 inferiores). O restante das plantas (872) foi amostrado aleatoriamente dentro dos ensaios, procurando-se genotipar uma média de 20 plantas por progênie. A análise de eletroforese de isoenzimas foi realizada 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 2/3 de

amido de milho (penetrose 30) a 13%, combinado com 1/3 de amido de batata (Sigma). As isoenzimas reveladas foram: Fosfatase Ácida (ACP-E.C. 3.1.3.2.), Alfa-Esterase (α -EST-E.C. 3.1.1.1), 6-Fosfogluconato Desidrogenase (6PGDH-E.C. 1.1.1.44), Fosfogluco Isomerase (PGI-E.C. 5.3.1.9), Isocitrato Desidrogenase (IDH-E.C. 1.1.1.42), Malato Desidrogenase (MDH-E.C. 1.1.1.37), Peroxidase (PRX-E.C. 1.11.1.7), Xiquimato Desidrogenase (SKDH-E.C. 1.1.1.25) e Glucose 6 Fosfato Desidrogenase (G6PDH-E.C. 1.1.1.49). As receitas de revelação das isoenzimas encontram-se em Alfenas (1998).

2.3 Análise Estatística

2.3.1 Análise de variância

A análise da variância conjunta para locais foi realizada considerando-se apenas as progênies comuns aos dois locais de ensaio (50 progênies). O modelo estatístico utilizado considerando locais como efeito fixo e populações e progênies como efeito aleatório foi:

$$Y_{ijkl} = m + t_i + l_l + b_{j/l} + (tl)_{il} + (tb)_{ij(l)} + t'_{k(i)} + (t'l)_{kl(i)} + e_{ijkl}$$

em que, Y_{ijkl} = valor da progênie k , no bloco j , na população i , no local l ; m = média geral do caráter nas populações; t_i = efeito aleatório da população i ($i = 1, 2, \dots, D$); l_l = efeito fixo de locais l ($l = 1, 2, \dots, L$); $b_{j/l}$ = efeito aleatório do bloco j ($j = 1, 2, \dots, J$), dentro do local l ; $(tl)_{il}$ = efeito da interação da população i no local l ; $(tb)_{ij(l)}$ = erro experimental em nível de parcelas; $t'_{k(i)}$ = efeito aleatório da progênie k ($k = 1, 2, \dots, K_i$), dentro da população i ; $(t'l)_{kl(i)}$ = efeito da interação de progênies/população por locais; e_{ijkl} = efeito do erro em nível de subparcela. A variância fenotípica dentro das subparcelas ($\hat{\sigma}_d^2$) foi obtida pela média ponderada dos quadrados médios dentro de subparcela, para cada população separadamente e em conjunto. Para a análise da variância individual e conjunta as notas dadas ao caractere FF foram transformadas em nível de plantas para $\sqrt{x_k + 0,5}$, sendo x a nota dada à árvore k .

A divergência genética entre e dentro de populações foi obtida em dois níveis de correlações intraclasse:

$$\hat{\theta}_P' = \frac{\hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_P^2 + \hat{\sigma}_{F/P}^2 + \hat{\sigma}_d^2}; \hat{\theta}_{F/P}' = \frac{\hat{\sigma}_{F/P}^2}{\hat{\sigma}_{F/P}^2 + \hat{\sigma}_d^2},$$

em que, $\hat{\theta}_P'$ = divergência genética entre populações;

$\hat{\theta}_{F/P}'$ = divergência genética entre progênies dentro de populações; $\hat{\sigma}_P^2$ = variância genética entre populações; $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ = variância genética entre progênies/população; $\hat{\sigma}_d^2$ = variância fenotípica dentro de progênies/populações. O tamanho efetivo populacional foi estimado de acordo com Vencovsky (1997).

2.3.2 Dados de isoenzimas

A estrutura genética das populações de *C. legalis* foi caracterizada para as isoenzimas pela análise de variância de frequências gênicas, com base em Weir (1996). Assim, de acordo com este autor, a variável x_{ij} corresponde ao alelo "j" na amostra da população "i", sendo que, quando x_{ij} estava presente, recebeu o valor 1,0 e quando ausente recebeu o valor zero. O modelo estatístico para a análise hierárquica de indivíduos dentro de progênies foi:

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

em que, Y_{ijk} = frequência do alelo k , para o indivíduo j , da 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 , da progênie i , com $j = 1, 2, \dots, b_i$; $g_{k(ij)}$ = efeito do alelo k , do indivíduo j , da progênie i , com $k = 1, 2, \dots, n_{ij}$. Ainda, a = número de progênies; b_i = número de indivíduos por progênies; n_{ij} = número de alelos em cada indivíduo dentro de cada progênie. Os parâmetros genéticos foram estimados dos componentes da variância da seguinte forma:

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

em que, $\hat{\theta}_F$ = divergência genética entre progênies ou coeficiente de coancestralidade entre plantas dentro de progênies; \hat{F} = correlação entre alelos, dentro de indivíduos de diferentes progênies;

\hat{f} = índice de fixação ou correlação entre alelos dentro de indivíduos de mesma progênie.

Para análise de variância das frequências gênicas de indivíduos dentro de progênies e progênies dentro de populações, utilizou-se o modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = m + p_i + f_{j(i)} + b_{k(ij)} + g_{l(ijk)}$$

em que, Y_{ijkl} = frequência do alelo l , dentro do indivíduo k , dentro da progênie j , dentro da população i ; m = média geral das frequências alélicas; p_i = efeito da população i , com $i = 1, 2, \dots, a$; $f_{j(i)}$ = efeito da progênie j , dentro da população i , com $j = 1, 2, \dots, b_i$; $b_{k(ij)}$ = efeito do indivíduo k , dentro da progênie j , dentro da população i , com $k = 1, 2, \dots, c_{ij}$; $g_{l(ijk)}$ = efeito do alelo l , dentro do indivíduo k , dentro da progênie j , dentro da população i , com $l = 1, 2, \dots, n_{ijk}$. Ainda, a = número de populações; b_i = número de progênies por população; c_{ij} = número de indivíduos dentro de cada progênie; n_{ijk} = número de alelos em cada indivíduo, dentro de cada progênie, dentro de cada população. As estimativas dos componentes da variância para a hierarquia de genes/indivíduos/progênies/populações também foram obtidas segundo Weir (1996). Os coeficientes de coancestralidade e endogamia foram estimados dos componentes da variância da seguinte forma:

$$\hat{\theta}_P = \frac{\hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_T^2}; \hat{\theta}_F = \frac{\hat{\sigma}_F^2 + \hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_T^2};$$

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

em que, $\hat{\theta}_P$ = divergência genética entre populações; $\hat{\theta}_F$ = coeficiente de parentesco ou coancestralidade das plantas dentro das progênies; \hat{F} = correlação entre alelos dentro de indivíduos de diferentes populações; \hat{f} = correlação entre alelos dentro de indivíduos dentro de populações. Para verificar se as estimativas médias de $\hat{\theta}_P$, $\hat{\theta}_F$, \hat{F} , e \hat{f} eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade pelo método de reamostragem *bootstrap*. Utilizaram-se 10.000 repetições sobre os locos. As análises de variâncias, descritas acima e os *bootstraps* foram obtidos através do programa GDA de 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 $\hat{H}_o = 1 - \sum P_{ii}$, onde: P_{ii} = frequência dos genótipos homocigotos. A diversidade gênica esperada (\hat{H}_e) para cada loco foi obtida segundo Nei (1977) por: $\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$, onde: p_i = frequência alélica estimada do i -ésimo alelo. A estimativa média sobre os locos de \hat{H}_o e \hat{H}_e foi obtida pela média aritmética entre todos os locos analisados (monomórficos mais polimórficos). A porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}) foi estimada pela média aritmética do número total de alelos pelo número de locos, sendo que um loco foi considerado polimórfico quando a frequência do alelo mais comum não ultrapassava 95%. 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):

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

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, através do programa GDA de Lewis & Zaykin (1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracteres Quantitativos

A magnitude da divergência genética entre populações variou entre os caracteres (TABELA 1). As maiores divergências entre populações ($\hat{\theta}_p$) foram observadas para os caracteres FF e VC, evidenciando que 6,0% e 12,8% da variação genética se encontram entre populações, respectivamente. Apesar da magnitude da divergência genética entre populações, o teste F da análise de variância conjunta

para locais não revelou diferenças genéticas significativas entre populações para os caracteres. Estudos da estrutura genética de populações em essências florestais a partir de caracteres quantitativos têm revelado resultados similares. Hamrick (1976) estudando a distribuição da variabilidade genética em quatro populações naturais de *Abies concolor* encontrou, em 13 caracteres quantitativos, diferenças entre populações variando de 0,0 a 49,8%, com média de 20%. Moraes (1993) estudando a estrutura genética de duas populações de *Myracrodruon urundeuva*, para 14 caracteres quantitativos, detectou no máximo 2,6% de divergência genética entre populações, sendo que na média, os caracteres não apresentaram divergência entre populações. Sebbenn *et al.* (1999), estudando a estrutura genética de sete procedências de *Grevillea robusta* para os caracteres DAP e altura, detectaram divergências entre populações, variando de 1,0% a 20%. Siqueira *et al.* (2000), estudando populações de *Balfourodendron riedelianum* detectaram no máximo 3,2% de divergência genética entre populações para os caracteres DAP e altura. Como visto, todos estes trabalhos mostraram que maior proporção da variação genética se encontra dentro de populações, porém a magnitude da divergência genética entre populações parece depender do tipo de caráter usado para estudar a estrutura genética populacional.

Entretanto, o número de populações amostradas, também pode influenciar a magnitude da divergência genética. Por exemplo, Kehlet & Roulund (1998) estudando 14 populações de *Picea stehansis* e Khalil (1985) estudando 9 populações de *Picea mariana*, observaram que mais de 50% da variação genética estava entre populações. Possivelmente, a amostragem ampla das populações das espécies tenha permitido detectar maior divergência genética entre as populações. A ausência de diferenças genéticas significativas entre as populações de *C. legalis*, para os caracteres, mostra que a estratégia de amostragem para a conservação *ex situ* não foi eficiente para representar a variação existente entre populações. A espécie tem ampla distribuição geográfica e ocupa diferentes habitats (Carvalho, 1994) e a amostragem de apenas três populações do Estado de São Paulo não é suficiente para representar as reais diferenças genéticas entre populações. Portanto, para a efetiva conservação genética da espécie *C. legalis*, será necessária a reamostragem de populações em toda a sua área de distribuição natural.

TABELA 1 - Distribuição da variação genética entre ($\hat{\sigma}_P^2$) e dentro ($\hat{\sigma}_{F/P}^2 + \hat{\sigma}_d^2$) de populações de *C. legalis* em Luiz Antonio (LA), Pederneiras (PE) e para análise conjunta.

	FF		DAP		ALT		VC	
$\hat{\sigma}_P^2$	0,0047	5,8%	0,0035	0,1%	0,0034	0,1%	0,0041	12,7%
$\hat{\sigma}_{F/P}^2$	0,0019*	2,3%	0,6903**	3,4%	0,1778*	2,6%	0,0005**	1,5%
$\hat{\sigma}_{F/P \times L}^2$	0,0034**	4,2%	0,1985	1,0%	0,1636*	2,4%	0,0004*	1,2%
$\hat{\sigma}_d^2$	0,0707	87,7%	19,3628	95,5%	6,5316	94,9%	0,0273	84,6%
$\hat{\sigma}_T^2$ ^a	0,0807	100%	20,2551	100%	6,8764	100%	0,0323	100%

ANAVA Conjunta: Campinas, Ibicatu e Vassununga = 17, 16 e 17 progênies, respectivamente.

(a) Variância total: $\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_P^2 + \hat{\sigma}_{F/P}^2 + \hat{\sigma}_{F/P \times L}^2 + \hat{\sigma}_d^2$; $\hat{\sigma}_P^2$ = variância genética entre populações; $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ = variação genética entre progênies dentro de populações; $\hat{\sigma}_{F/P \times L}^2$ = variação genética da interação progênies/populações x locais; $\hat{\sigma}_d^2$ = variação fenotípica dentro de progênies.

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

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

A ausência de divergência genética entre populações demonstra que não existem vantagens na seleção de uma ou outra população para servir de base para um programa de melhoramento com a espécie. Portanto, pode-se tratar as três populações como uma só, igualmente nos dois locais de ensaio, com a vantagem de ampliar a base genética da população base, pela baixa probabilidade de existência de parentesco entre progênies de diferentes populações.

Como os testes de progênies, entre outras coisas, avaliam os parentais a partir de seus descendentes, os resultados apresentados na TABELA 1, também permitem inferir sobre as populações naturais de origem das progênies. A baixa diferenciação genética entre populações sugere que estas populações são semelhantes do ponto de vista genético. A semelhança pode ser explicada por duas hipóteses: primeiro, devido a uma origem comum, ou seja, as três populações poderiam ter sido fundadas de uma mesma população ancestral; segundo, devido ao intenso fluxo gênico ocorrido no passado, quando as florestas no Estado de São Paulo eram contínuas, o que levou à homogeneidade na variabilidade genética destas populações. Como se trata de uma espécie longeva (vive mais de 500 anos - Carvalho, 1994) e o processo de fragmentação é recente (menos de 100 anos), pode não ter transcorrido tempo suficiente para que ocorresse grande divergência genética entre populações por deriva genética e/ou seleção natural.

A variabilidade genética entre progênies/população ($\hat{\sigma}_{F/P}^2$) foi baixa ($\leq 6,2\%$), mas significativa pelo teste F (1%), sugerindo a possibilidade de ganhos na seleção. Já a variabilidade fenotípica dentro de progênies ($\hat{\sigma}_d^2$) foi alta para todos os caracteres, com valores, em muitos casos, acima de 90,0%. A maioria dos estudos da estrutura populacional com caracteres quantitativos tem mostrado maior variação dentro de progênies (Hamrick, 1976; Sorensen & White, 1988; Moraes, 1993; Sebbenn *et al.*, 1999; Siqueira *et al.*, 2000).

3.2 Dados de Isoenzimas

As freqüências gênicas dos óvulos foram eleitas para representar as freqüências gênicas dos indivíduos adultos nas populações naturais. As freqüências gênicas das progênies não representam obrigatoriamente as freqüências dos indivíduos adultos das populações naturais de origem. Quando sementes de polinização aberta são coletadas de uma árvore, a árvore materna contribui com a metade dos alelos para os filhos e, hipoteticamente, diferentes pais com a outra metade e, logo a mãe tem a maior contribuição, devido a todos os filhos receberem pelo menos um alelo de origem materna e cada filho, teoricamente, alelos de diferentes pais. Assim, o número de alelos idênticos de origem materna é maior do que o de origem paterna e as

freqüências alélicas da progênie, são determinadas, principalmente pelos alelos vindos da mãe. Então, quando os parentais não são avaliados via marcadores genéticos, pode-se estimar suas freqüências alélicas, separando as freqüências de origem materna (óvulos) das de origem paterna (pólen). Isto pode ser feito pelas estimativas de máxima verossimilhança das freqüências gênicas dos óvulos e do pólen, com base no modelo misto de Ritland & Jain (1981) e auxílio do programa MLTR de Ritland (1997)*.

As estimativas da divergência genética entre populações para adultos e progênies são apresentadas na TABELA 2. A divergência genética entre populações foi baixa para adultos (2,3%) e progênies (0,9%) indicando similaridade genética entre populações, em concordância aos resultados obtidos para os caracteres quantitativos. O alto fluxo gênico aparente estimado entre populações confirma esta hipótese (TABELA 2). Porém, a baixa diferenciação entre populações provavelmente não ocorreu pelo fluxo gênico atual, dado que é pouco provável que ele exista ou que

seja intenso o suficiente para manter estas populações coesas do ponto de vista genético. A grande distância e o isolamento dos fragmentos (mínimo de 100 km, entre a população Ibicatu e Campinas), possivelmente impeça o fluxo gênico. Logo, as estimativas obtidas de fluxo gênico representam um acontecimento passado, antes do processo de fragmentação e a baixa diferenciação genética reflete a divergência genética que existia antes do processo de exploração, ou seja, baixa diferenciação. Este resultado está de acordo com a maioria dos estudos de estrutura genética de populações de espécies arbóreas alógamas, realizados a partir de dados de isoenzimas, que tem revelado baixa divergência entre populações (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick & Godt, 1990). Harritt (1991), estudando duas populações de *C. legalis* no Estado do Espírito Santo, também encontrou baixa divergência genética entre populações (0,052). A alogamia combinada com a alta habilidade para dispersar pólen e sementes impediria grandes divergências genéticas entre populações por deriva genética e/ou seleção.

TABELA 2 - Índices de fixação médio dentro de populações (\hat{f}) para o conjunto das populações (\hat{F}), divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) e fluxo gênico entre populações de *C. legalis*.

Populações	Distância média aproximada	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m
Progênies - SP	180 km	0,119	0,249	0,009	13,8
		[0,050 a 0,186]	[0,146 a 0,339]	[-0,004 a 0,028]	
Adultos - SP	180 km	----	----	0,023	2,6
				[0,015 a 0,031] ^{ab}	
SP x ES (Adultos) ^d c	> 800 km	----	----	0,093	1,6
				[-0,217 a 0,403] ^{ab}	

(a) Estimativa \hat{F}_{ST} (Nei, 1977) realizada apenas utilizando os locos α Est-1, α Est-2, Mdh-1 e Pgi-1.

(b) Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, estimado a partir de reamostragem *Jeckknife* sobre locos.

(c) Três populações de São Paulo e duas do Espírito Santo.

(d) Harritt (1991).

[] Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, estimado a partir de 10.000 reamostragens *bootstrap* sobre locos.

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

Comparando-se as árvores adultas das populações do Estado de São Paulo com as do Espírito Santo (TABELA 2), observa-se que a divergência genética aumenta consideravelmente conforme aumenta a distância entre as populações (9,3%), sugerindo a hipótese de isolamento por distância. Neste caso, a divergência pode ser atribuída à deriva genética, considerando a natureza supostamente neutra das isoenzimas, caso contrário, a seleção também pode ter atuado para o fenômeno. Todavia, como as populações em estudo se encontram isoladas, pode-se prever um aumento na divergência genética com o passar das gerações. São esperados menos problemas de deriva e endogamia na população Vassununga, devido ao maior tamanho populacional (~300 árvores) e área disponível para regeneração (área \cong 191,0 ha). No caso das populações Campinas e Ibicatu será necessário aumentar o número de indivíduos nas populações, caso contrário, elas desaparecerão. O número de indivíduos nestas populações é baixo ($N < 20$) e como existem evidências de parentesco dentro destas populações (Sebbenn *et al.*, 2000), o tamanho efetivo deve ser ainda menor ($N_e < N$), portanto, está muito abaixo do tamanho efetivo mínimo (50) requerido para que não ocorra a perda de alelos raros e variação genética por deriva em poucas gerações (Frankel & Soulé, 1981). A reintrodução de aproximadamente 100 indivíduos não aparentados e endogâmicos pode garantir a perpetuação das populações. A origem destes indivíduos pode ser a população Vassununga, visto quase não existir divergência entre esta e as populações Campinas e Ibicatu, reduzindo o risco de depressão por cruzamento. A probabilidade de existir parentesco entre árvores de diferentes populações também é baixa, logo é possível aumentar o tamanho efetivo das populações pequenas.

As medidas de divergência genética entre populações (\hat{F}_{ST} e $\hat{\theta}_p$) dão uma idéia do parentesco existente dentro das populações naturais. Considerando-se que estas estatísticas medem o grau de divergência genética entre populações a partir da correlação ou covariância genética entre indivíduos dentro de populações e, portanto, a partir da probabilidade de que dois

alelos tomados em dois indivíduos de uma mesma população sejam idênticos por descendência, tem-se o parentesco médio dentro das populações. O \hat{F}_{ST} dá o parentesco médio entre árvores maternas e $\hat{\theta}_p$ o parentesco médio entre todos os genitores que deram origem às progênies, logo, mede o parentesco das árvores maternas e paternas, simultaneamente. Nota-se assim, que o parentesco entre as árvores maternas é de 2,3% e entre árvores maternas e paternas de 0,9%. A redução no grau de parentesco, quando genitores masculinos e femininos são considerados na estimativa, parece coerente, dado que o número de plantas das populações incluídas na análise aumenta, e na média, o parentesco pode diminuir. Este resultado está de acordo com aqueles observados por Sebbenn *et al.* (2000), que também detectaram a presença de cruzamentos entre parentes dentro das populações (mínimo 5,9%). A presença de parentesco na geração parental tem implicações na estimativa de parâmetros genéticos via caracteres quantitativos, podendo levar a subestimativas nas herdabilidades e ganhos na seleção (Squillace, 1974).

Os níveis de fixação de alelos para o conjunto das progênies dentro das populações (\hat{F}) foi alto e similar para as três populações (média de 0,249; TABELA 2). O intervalo de confiança da estimativa de \hat{F} mostra que a endogamia foi significativamente diferente de zero, mas não diferente entre as populações, reforçando a hipótese de baixas diferenças entre as populações. Contudo, comparando as estimativas de \hat{F} entre progênies (0,249) e adultos ($\hat{f}_p = 0$), observa-se indícios de seleção a favor de heterozigotos e o excesso de endogamia nas progênies, em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, parece ser eliminada pela seleção natural durante a fase de crescimento das plantas. Harritt (1991) estudando árvores adultas de *C. legalis* em condições naturais observou excesso de heterozigotos dentro das populações ($\hat{f}_p = -0,113$), corroborando com a hipótese de seleção para heterozigotos entre a fase de plântula e a fase adulta. Sebbenn *et al.* (2001) estudando os efeitos da depressão por endogamia em caracteres de crescimento de *C. legalis*, detectaram fortes efeitos deletérios da endogamia nos caracteres.

Provavelmente, a cada evento reprodutivo, as populações de *C. legalis* liberam sementes com diferentes graus de endogamia, sendo que a seleção natural atua a favor dos heterozigotos, eliminando parte dos homozigotos. A seleção para heterozigotos em populações naturais de espécies arbóreas já foi documentada na literatura, sendo que existem fortes evidências para o fenômeno (Mitton & Grant, 1980; Ledig *et al.*, 1983; Strauss, 1987; Murawski & Hamrick, 1992; Murawski & Bawa, 1994; Murawski, 1995; Sebbenn *et al.*, 1998, 2001; entre outros).

Considerando a natureza supostamente neutra das isoenzimas, pode-se atribuir a detecção de seleção para heterozigotos ao desequilíbrio de ligação entre locos isoenzimáticos a locos de efeitos adaptativos. Este aspecto também tem sido muito discutido na literatura, permanecendo ainda hoje, muitas teorias e discordância entre diferentes grupos de pesquisadores (Nei, 1977). Contudo, as evidências parecem favorecer a hipótese de que algumas isoenzimas sofrem seleção.

A divergência genética entre progênies/populações ($\hat{\theta}_F$) foi maior do que 12,5% (TABELA 3), sugerindo que as progênies não são exclusivamente meios-irmãos. Em progênies de meios-irmãos, o valor mínimo esperado para $\hat{\theta}_F$ é 0,125, contudo, em progênies compostas por misturas de meios-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação, seu valor sobe em direção à 0,5, sendo tanto mais próximo deste quanto maior for o parentesco dentro das progênies (irmãos de autofecundação). Este resultado já foi reportado por Sebbenn *et al.* (2000), estudando o sistema de reprodução de *C. legalis*. Segundo os autores as progênies aqui em estudo são compostas por misturas de meios-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação, sendo os meios-irmãos em maior proporção.

TABELA 3 - Componentes de variância para análise individual e conjunta das populações de *C. legalis*.

	Populações							
	Campinas		Ibicatu		Vassununga		Conjunto	
$\hat{\sigma}_P^2$	----	----	----	----	----	----	0,0407	0,9% ^a
$\hat{\sigma}_{F/IP}^2$	0,6088	13,1% ^b	0,5559	14,8% ^b	0,7601	15,5% ^b	0,6490	13,9% ^b
$\hat{\sigma}_{I/IF}^2$	0,6065	13,1%	0,4822	12,8%	0,3834	7,8%	0,4718	10,1%
$\hat{\sigma}_{G/II}^2$	3,4292	73,8%	2,7263	72,4%	3,7467	76,6%	3,5008	75,1%
$\hat{\sigma}_T^2$	4,6445	100,0 %	3,7644	100,0%	4,8902	100,0%	4,6623	100,0%

(a) Coeficiente de coancestralidade entre populações.

(b) Coeficiente de coancestralidade entre progênies/populações.

Sendo: $\hat{\sigma}_P^2$ = variabilidade genética entre populações; $\hat{\sigma}_{F/IP}^2$ = variabilidade genética entre progênies dentro de populações; $\hat{\sigma}_{I/IF}^2$ = variabilidade genética entre indivíduos dentro de progênies; $\hat{\sigma}_{G/II}^2$ = variabilidade entre genes dentro de indivíduos; $\hat{\sigma}_T^2$ = variabilidade genética total.

Os índices de diversidade foram altos e similares entre as populações (TABELA 4). As médias das heterozigosidades observada (0,273) e esperada (0,368) foram muito superiores à média apresentada pelas espécies arbóreas (0,142) e espécies arbóreas tropicais (0,211) (Hamrick *et al.*, 1979). Apesar da alta variabilidade genética observada, o índice de

fixação (\hat{f}) mostrou excesso significativo de homozigotos dentro das populações, sugerindo desvios das proporções do EHW. Os desvios podem ser atribuídos ao sistema de reprodução, como ressaltado por Sebbenn *et al.* (2000), pela ocorrência de autofecundações, cruzamentos entre aparentados e cruzamentos preferenciais nas populações.

TABELA 4 - Número de alelos (nA), tamanho médio da amostra (n), porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}), número médio de alelos por locos (\hat{A}), heterozigiosidade observada (\hat{H}_o), heterozigiosidade esperada (\hat{H}_e), índice de fixação (\hat{f}), tamanho efetivo (\hat{N}_e) e relação \hat{N}_e/n para populações de *C. legalis*.

População	nA	n	\hat{P} (95%)	\hat{A}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{f} ¹	\hat{N}_e	\hat{N}_e/n
Campinas	38	412	100	2,7	0,263 (0,028)	0,348 (0,037)	0,249 [0,089]	64,4	0,16
Ibicatu	39	386	100	2,8	0,267 (0,026)	0,350 (0,032)	0,242 [0,054]	66,7	0,17
Vassununga	42	434	100	3,0	0,287 (0,032)	0,366 (0,035)	0,220 [0,100]	68,8	0,16
Conjunta	42	1.232	100	3,0	0,273 (0,028)	0,358 (0,035)	0,239 [0,084]	199,9	0,16

() Erro padrão da média.

[] Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, estimado a partir de 10.000 reamostragens *bootstraps*.

O tamanho efetivo (\hat{N}_e) também apresentou valores similares entre as populações, sendo que a população Vassununga teve uma pequena superioridade, devido ao maior número de progênies amostradas e ao menor coeficiente de endogamia. A relação \hat{N}_e/n , foi baixa para as populações (média 0,16), revelando que a representatividade genética dos indivíduos é baixa. Em progênies de polinização aberta de uma população grande, panmítica, sem parentesco e endogamia na geração parental e com igual fertilidade masculina e feminina, a relação \hat{N}_e/n é de 0,25 e, seu valor máximo populacional é estimado por $4nF$, (nF = número de progênies amostradas). A relação \hat{N}_e/n foi 36% inferior ao valor esperado em progênies de meios-irmãos, confirmando que as progênies não são meios-irmãos. A redundância nos alelos de origem materna ou paterna, idênticos por descendência reduz o \hat{N}_e .

Esta identidade aumenta, à medida que aumentam as autofecundações, os cruzamentos entre aparentados, os cruzamentos preferenciais, a endogamia na geração parental e as diferenças na fertilidade masculina e feminina dos genitores. Assim, pode-se atribuir a menor representatividade genética observada nas populações de *C. legalis* aos efeitos do sistema de reprodução. Isto implica que a variabilidade genética retida no ensaio é menor que a esperada na amostragem para a conservação da espécie. Para contornar este problema, comum em progênies de polinização aberta, deve-se aumentar o número de matrizes amostradas nas populações naturais, tomando-se o cuidado de coletar as sementes de frutos diferentes de uma mesma planta materna. Isto pode reduzir o grau de parentesco dentro das progênies, para valores próximos aos apresentados por meios-irmãos, aumentando o tamanho efetivo do banco de conservação *ex situ*.

3.3 Caracteres Quantitativos e Isoenzimas

Os resultados (TABELAS 1 e 2) obtidos para a divergência genética entre populações por caracteres quantitativos ($\hat{\theta}_p'$) e por isoenzimas ($\hat{\theta}_p$) levam para a mesma conclusão, que a divergência genética entre as populações é baixa e não significativa e que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro das populações. A magnitude de $\hat{\theta}_p'$ foi maior que a apresentada por $\hat{\theta}_p$, para os caracteres FF e VC, sugerindo que a seleção estava envolvida na divergência genética entre as populações. Para os caracteres DAP e altura o comportamento foi o oposto, indicando que a divergência genética foi causada apenas por deriva genética. Yang *et al.* (1996) observaram que a seleção era a responsável pela divergência genética entre populações, para os caracteres densidade específica, DAP, altura, diâmetro dos ramos e comprimento dos ramos, em *Pinus contorta* ssp *latifolia*. Apenas o caráter ângulo dos ramos foi encontrado pelos autores por estar somente sob o efeito da deriva genética.

A variabilidade genética entre progênies dentro de populações ($\hat{\sigma}_{F/P}^2$) para as isoenzimas (TABELA 2) foi no mínimo o dobro da variabilidade encontrada para os caracteres quantitativos (TABELA 1), mostrando pouca congruência. Os baixos valores de $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ para os caracteres quantitativos possivelmente decorreram do fato de que as progênies são de polinização aberta e constituídas por misturas de meios-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação. A mistura de progênies pode estar inflando a variação fenotípica dentro das progênies ($\hat{\sigma}_d^2$), originando correlações intraclasses e mascarando a variância genética entre progênies. Assim, como as variâncias são medidas sobre caracteres fenotípicos, controlados simultaneamente por efeitos genéticos e ambientais, torna-se difícil determinar grandezas que caracterizem classes de parentesco. Por exemplo, progênies de meios-irmãos podem apresentar valores similares para a $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ às progênies resultantes de uma geração de autofecundação (S1). Por sua vez, as isoenzimas são na maioria das vezes neutras e apresentam herança mendeliana simples,

permitindo a determinação de parentescos específicos, em função do tipo de esquema de cruzamento utilizado. Assim, a $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ estimada por isoenzimas ou outro marcador co-dominante, dependente do tipo de parentesco entre as plantas dentro das progênies e assume valores de 0,125 em meios-irmãos, 0,25 em irmãos-completos, 0,5 em irmãos de uma geração de autofecundação e valores intermediários em misturas de progênies. Por exemplo, misturas de progênies de meios-irmãos e irmãos de autofecundação podem apresentar valores de $\hat{\sigma}_{F/P}^2$, variando entre 0,125 a 0,5, sendo a tendência para um ou outro sentido, dada pela proporção dos diferentes tipos de progênies. Desta forma, as medidas de $\hat{\sigma}_{F/P}^2$ obtidas por isoenzimas, podem ser previstas e utilizadas para aferir o grau de parentesco entre progênies e estimar parâmetros genéticos com maior precisão, o que não é possível por meio de caracteres quantitativos.

A variância fenotípica dentro de progênies ($\hat{\sigma}_d^2$) obtida para caracteres quantitativos (TABELA 1), é comparável à variabilidade genética entre genes dentro de indivíduos somada à variabilidade genética entre indivíduos dentro de progênies ($\hat{\sigma}_{G/I}^2 + \hat{\sigma}_{I/F}^2$), obtida de dados de isoenzimas (TABELA 3). Os resultados foram consistentes entre os dois métodos, mostrando que no mínimo 85% da variabilidade genética se encontra entre indivíduos dentro das progênies.

Os resultados da estrutura genética de populações, encontrados para caracteres quantitativos e dados de isoenzimas mostram, de modo geral, consistência e complementaridade entre si. Portanto, a escolha do método a ser utilizado, se torna uma função dos objetivos do trabalho. A caracterização da estrutura de populações para a conservação *in situ*, pode ser rápida, eficiente e facilmente realizada pela eletroforese de isoenzimas e a caracterização de populações para a conservação genética *ex situ* ou para o melhoramento, pode ser mais eficientemente realizada em ensaios de campo, permitindo a avaliação da adaptação do material a ambientes específicos. Contudo, mesmo neste caso, a avaliação do sistema de reprodução, do parentesco e da endogamia da geração parental, a partir de um marcador co-dominante, é vantajosa, podendo levar à maior precisão na estimativa de parâmetros genéticos.

4 CONCLUSÕES

- a) A magnitude da divergência genética detectada entre populações por caracteres quantitativos e por isoenzimas foi baixa e não significativa, evidenciando consistência nos resultados entre os dois métodos.
- b) Detectaram-se indícios de que a divergência genética entre populações para os caracteres forma do fuste e volume cilíndrico foi causada por seleção.
- c) As heterozigosidades observada (\hat{H}_o) e esperada (\hat{H}_e) detectadas em *C. legalis* foram altas, mostrando que apesar das populações estarem fragmentadas, elas ainda mantêm níveis altos de variabilidade genética.
- d) A comparação do índice de fixação entre adultos e suas progênes, sugere a existência de seleção contra excesso de homozigotos, em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às técnicas de laboratório Elza Martins Ferraz e Márcia Patrícia Moreno e aos estagiários Fernanda Gosser Brasso e Gabriel Bortoleto Bichuette pelo auxílio nas eletroforeses de isoenzimas, ao técnico em agropecuária Gelson Dias Fernandes, ao estudante de Engenharia Florestal Marcio Fedele (ESALQ/USP) e ao Biólogo Fernando Schimdt pelo auxílio na coleta de campo. Aos funcionários do Instituto Florestal de São Paulo pelo auxílio na coleta dos dados quantitativos. Em especial agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de doutoramento ao primeiro autor e à FAPESP pelo financiamento do projeto (FAPESP nº 98/02448-7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, S. A. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 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.

CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; ALLARD, R. W. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. *Genetics*, Washington, v. 89, p. 765-92, 1978.

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

HAMRICK, J. L. Variation and selection in western montane species II. Variation within and between populations of White Fir on elevation transect. *Theoretical and Applied Genetics*, 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 Ecology and Systematics*, Davis, v. 10, p. 173-200, 1979.

HAMRICK, J. L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C. M. *et al.* (Ed.). *Genetics and conservation*. Menlo Park: Benjamin Cummings Publishing Company, 1983. p. 335-348.

_____. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. In: URBANSKA, K. (Ed.). *Differentiation patterns in higher plants*. New York: Academic Press, 1987. p. 53-76.

_____; 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, 1990. p. 43-63.

HARRITT, M. M. *Ecology and genetic variation of four hardwoods of Brazil's atlantic forest region*. 1991. 204 f. Thesis - North Carolina State University, Raleigh.

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.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; ZANATTO, A. C. S. Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.) por caracteres quantitativos e isoenzimas.

KHALIL, M. A. Genetics of wood characters of black spruce [*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.] in Newfoundland, Canada. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 34, n. 6, p. 221-230, 1985.

LANDE, R. Neutral theory of quantitative genetic variance in an island model with local extinction and colonization. *Evolution*, San Francisco, v. 46, p. 381-389, 1992.

LEDIG, F. T.; GURIES, R. P.; BONEFELD, B. A. The relation of growth to heterozygosity in pitch pine. *Evolution*, San Francisco, v. 37, p. 1227-1238, 1983.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis**: version 1.0(d12) for Windows. Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 89 p.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Davis, v. 15, p. 65-95, 1984.

MITTON, J. B.; GRANT, M. C. Observation on the ecology and evolution of quaking aspen, *Populus tremuloides*, in the Colorado Front Range. *American Journal of Botany*, Oklahoma, v. 67, p. 1040-1045, 1980.

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 Florestal) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *Journal of Heredity*, Cary, v. 83, n. 6, p. 401-404, 1992.

_____; BAWA, K. S. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *American Journal of Botany*, Oklahoma, v. 81, n. 2, p. 155-160, 1994.

MURAWSKI, D. A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from canopy perspective. In: LOWMAN, M. D.; NADKARNI, N. M. (Ed.). **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p. 457-493.

NEI, M. *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics*, London, v. 41, p. 225-233, 1977.

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Maximização da eficiência de seleção em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, v. 28/29, p. 37-55, 1994.

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

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOSVKY, R. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 53, p. 15-30, 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, 1999.

SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *C. legalis* (Mart.) O. Ktze. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 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, 2001.

SIQUEIRA, A. C. M. De F. *et al.* O jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: uma espécie em extinção. *Bol. Técn. IF*, São Paulo, v. 40A, p. 291-301, 1986.

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.

SORENSEN, F. C.; WHITE, T. L. Effect of natural inbreeding on variance structure in tests of wind-pollination Douglas-Fir progenies. *Forest Science*, Bethesda, v. 34, n. 1, p. 102-118, 1988.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; ZANATTO, A. C. S. Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.) por caracteres quantitativos e isoenzimas.

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

STRAUSS, S. H. Heterosis at allozyme loci under inbreeding and crossbreeding in *Pinus attenuata*. *Genetics*, Washington, v. 113, p. 115-134, 1987.

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*, Cary, v. 72, p. 282-283, 1989.

VENCOVSKY, R. Biometrical approaches for molecular marks estimation of effective population size. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY, 1997, Piracicaba. *Proceedings...* Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p. 233-234.

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

WRIGHT, S. Evolution and the genetics populations. *Annual Eugenic*, Chicago, v. 15, p. 323-354, 1951.

YANG, R. C.; YEH, F. C.; YANCHUK, A. D. A comparison of isozymes and quantitative genetic variation in *Pinus contorta* spp *latifolia* by F_{ST} . *Genetics*, Washington, v. 142, p. 1045-1052, 1996.