

# 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 multilocos 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 multilocos e unilocos sugeriu que ocorreram cruzamentos entre indivíduos aparentados, na ordem de  $\hat{\alpha}$  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 progênes 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 progênes 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 progênes, 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: Fosfoglucose 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.