

Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas  
e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*Mating system in small fragmented populations  
and isolated trees of *Hymenaea stigonocarpa*Mario Luiz Teixeira de Moraes<sup>1</sup>, Paulo Yoshio Kageyama<sup>2</sup> e Alexandre Magno Sebbenn<sup>3</sup>**Resumo**

Seis locos microssatélites foram usados para quantificar o sistema de reprodução em árvores de duas pequenas populações fragmentadas (Selvíria - SEL e Aparecida do Tabuado - APT, Mato Grosso do Sul) e em árvores isoladas em pastagens por pelo menos 500 m entre si da espécie arbórea polinizada por morcegos, *Hymenaea stigonocarpa*, na região centro-oeste do Brasil. Foram coletadas sementes em 11 árvores na população SEL, três na APT e em seis árvores isoladas em pastagens. Para verificar a existência de diferenças no sistema de reprodução entre árvores ocorrentes nas populações e isoladas, agruparam-se as árvores das populações e as isoladas em dois diferentes grupos. A taxa de cruzamento multiloco foi maior nas populações ( $\hat{f}_m=0,873$ ) do que nas árvores isoladas ( $\hat{f}_m=0,857$ ), mas a diferença não foi significativa. As diferenças entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco foram altas e significativamente diferentes de zero, tanto nas populações ( $\hat{f}_m-\hat{f}_s=0,301$ ,  $P<0,05$ ) como nas árvores isoladas ( $\hat{f}_m-\hat{f}_s=0,276$ ,  $P<0,05$ ), sugerindo cruzamentos entre árvores aparentadas. Maior correlação de paternidade foi observada nas sementes coletadas das populações ( $\hat{r}_p=0,636$ ) do que nas árvores isoladas ( $\hat{r}_p=0,377$ ), indicando cruzamentos correlacionados e que parte das progênies são irmãos-completos. Não foi detectado aumento de autofecundação em árvores isoladas em pastagens. De modo geral, a única diferença significativa observada no sistema de reprodução entre as populações e das árvores isoladas foi a maior proporção de cruzamentos correlacionados nas populações, devido provavelmente à menor distância entre coespecíficos e ao comportamento dos polinizadores visitando sistematicamente árvores próximas.

**Palavras-chave:** Jatobá-do-cerrado, Espécies arbóreas tropicais, Cruzamentos correlacionados, Coancestria, Endogamia, Tamanho efetivo

**Abstract**

Six microsatellite loci were used to quantify the mating system of two small fragmented populations (Selvíria - SEL and Aparecida do Tabuado - APT, Mato Grosso do Sul State) and isolated trees in pastures, of the bat-pollinated tropical tree *Hymenaea stigonocarpa*, growing in the Center-west region of Brazil. In SEL population, seeds were collected from 11 mother-trees; in APT, from three trees and, in the case of isolated trees, from six individuals growing at least 500 m apart in pastures. To investigate if there are differences on mating system between trees in populations and isolated trees, trees from populations were pooled as a group and, likewise, the isolated trees were pooled to another group. The outcrossing rate was higher in the populations ( $\hat{f}_m=0.873$ ) than in isolated trees ( $\hat{f}_m=0.857$ ), but the difference was not significant. Significant and high differences between multi-locus and single-locus outcrossing rate were detected in populations ( $\hat{f}_m-\hat{f}_s=0.301$ ,  $P<0.05$ ) and isolated trees ( $\hat{f}_m-\hat{f}_s=0.276$ ,  $P<0.05$ ), suggesting mating between relatives. Higher paternity correlation was observed in trees from population ( $\hat{r}_p=0.636$ ) than in isolated trees ( $\hat{r}_p=0.377$ ), indicating the occurrence of some correlated matings and that part of offspring are full-sibs. It was not observed increased in self-fertilization rate in isolated trees in pastures. In general terms, the unique observed difference in mating system between populations and isolate trees was the high rate of correlated matings in trees from populations, due probably to the small distance among coespecifics and the pollinator behavior, visiting near trees.

**Keywords:** Jatobá-do-cerrado, Tropical tree species, Correlated matings, Coancestry, Inbreeding, Effective population size

<sup>1</sup>Professor Livre-Docente do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Engenharia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia da Universidade Estadual Paulista - Av. Brasil Centro, 56 - Ilha Solteira, SP - 15385-000 - E-mail: [teixeira@agr.feis.unesp.br](mailto:teixeira@agr.feis.unesp.br)

<sup>2</sup>Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo - Caixa Postal 9 - Piracicaba, SP - 13400-970 - E-mail: [kageyama@esalq.usp.br](mailto:kageyama@esalq.usp.br)

<sup>3</sup>Pesquisador do Instituto Florestal de São Paulo - Caixa Postal 339 - Piracicaba, SP - 13400-970 - E-mail: [alexandresebbenn@yahoo.com.br](mailto:alexandresebbenn@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

Quando se pretende coletar sementes de polinização aberta de espécies arbóreas tropicais para fins de restauração ambiental, implantação de bancos de germoplasma ou mesmo testes de progênies para programas de melhoramento florestal, o conhecimento do sistema de reprodução das espécies é de fundamental importância, pois determina a estrutura genética na geração descendente. Quanto maior é a taxa de cruzamento e o tamanho da vizinhança reprodutiva e menor forem as taxas de cruzamento entre parentes e cruzamentos biparentais, menor será a endogamia e a coancestria dentro das progênies e, conseqüentemente, maior será o tamanho efetivo de cada progênie, de forma que um menor número de progênies será necessário para reter um determinado tamanho efetivo alvo da amostra. Portanto, a chave para amostrar corretamente as populações é o conhecimento do seu sistema de reprodução.

Espécies arbóreas tropicais reproduzem-se geralmente por altas taxas de cruzamentos (>0,9: SEBBENN, 2003), embora muitos estudos mostrem que parte desses cruzamentos são endogâmicos e biparentais (JAMES *et al.*, 1998; COLLEVATTI *et al.*, 2001; CASCANTE *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2003). O sistema de reprodução dessas espécies pode ser afetado por sistemas de auto-incompatibilidade (BAWA *et al.*, 1985; GIBBS *et al.*, 1999), evitando autofecundações e cruzamentos endogâmicos, por variações na fenologia de florescimento e diferenças na maturidade reprodutiva das plantas, reduzindo o tamanho da vizinhança reprodutiva das populações. Variações na densidade populacional (MURAWSKI e HAMRICK, 1992) e fatores antropogênicos como fragmentação florestal e corte seletivo de árvores também podem afetar o sistema de reprodução dessas espécies (NASON e HAMRICK, 1997; ALDRICH e HAMRICK, 1998; DICK *et al.*, 2003; DEGEN *et al.*, 2004; LOWE *et al.*, 2005).

A baixa densidade populacional, presença de sistemas de auto-incompatibilidade e as conseqüentes altas taxas de cruzamento de muitas espécies arbóreas dos trópicos tornam-nas vulneráveis à fragmentação (CASCANTE *et al.*, 2002). A fragmentação florestal isola indivíduos e populações, reduz a densidade populacional e o tamanho da vizinhança reprodutiva, podendo diminuir o fluxo de genes entre populações e aumentar a endogamia dentro das popula-

ções e, conseqüentemente, aumentando a diferenciação entre as populações remanescentes (YOUNG *et al.*, 1996; JUMP e PENUELAS, 2006). Estudos recentes indicam que a taxa de cruzamento e o número de parentais polinizadores contribuindo para a descendência diminui em populações fragmentadas e em árvores isoladas, comparativamente a populações contínuas. Fuchs *et al.* (2003) relatam menor taxa de cruzamento ( $\hat{t}_m=0,777$ ) e maior correlação de paternidade ( $\hat{r}_p=0,740$ ) em sementes de *Pachira quinata* coletadas de árvores isoladas, em comparação a sementes coletadas em uma população contínua ( $\hat{t}_m=0,915$ ;  $\hat{r}_p=0,470$ ). Menor taxa de cruzamento em árvores isoladas em comparação a árvores ocorrentes em populações contínuas ou fragmentadas também são descritos em *Samanea saman* (CASCANTE *et al.*, 2002), *Symfonia globulifera* (ALDRICH e HAMRICK, 1998) e *Dinizia excelsa* (DICK *et al.*, 2003). A redução na taxa de cruzamento e o aumento da correlação de paternidade em árvores localizadas em ambientes altamente antropizados têm sido atribuídos ao aumento do isolamento das árvores, redução no tamanho da vizinhança reprodutiva e alterações no comportamento dos polinizadores, desencadeada pela fragmentação de habitats. Assim, sementes coletadas de polinização aberta de árvores isoladas e localizadas em pequenos fragmentos podem conter maior parentesco e endogamia e, portanto, menor tamanho efetivo do que sementes coletadas em populações contínuas.

*Hymenaea stigonocarpa* Mart ex Hayne (jatobá-do-cerrado) pertence à família Leguminosae (Caesalpinaceae), tem uma ampla dispersão, porém um tanto irregular e restrita à caatinga e ao cerrado da região central e sudoeste do Brasil. A espécie é polinizada por pelo menos quatro espécies de morcegos, incluindo os especializados *Glossophaga soricina* e os menos especializados frutíferos *Platyrrhinus lineatus* e *Carolilia perspicillatta* (GIBBS *et al.*, 1999). Cruzamentos controlados indicam a espécie como de cruzamento, autocompatível e existem indícios de seleção pós-zigótica nas flores autofecundadas (GIBBS *et al.*, 1999). A importância econômica da espécie está associada ao uso da madeira para construção naval e civil; a sua casca que fornece um corante amarelo utilizado em vários segmentos; e a seus frutos que são comestíveis. É também importante para a fauna, servindo de alimento para periquitos, papagaios, bugios, roedores, lobinhos e insetos (LOREN-

ZI, 1992; SILVA *et al.*, 1994 e BOTELHO *et al.*, 2000), seus prováveis dispersores. Contudo, a despeito de sua importância, a espécie foi muito explorada no passado pela indústria naval, devido à excelente qualidade de sua madeira, em termos de durabilidade e resistência ao apodrecimento. Por isso, a sua baixa densidade populacional natural e a destruição generalizada de seu habitat de ocorrência, o cerrado e a caatinga, hoje a espécie é encontrada somente em pequenas populações remanescentes ou como árvores isoladas em campos e pastagens. Planos para sua conservação *ex situ* estão em andamento e sementes estão sendo coletadas em árvores remanescentes em pequenas populações e em árvores isoladas em campos e pastagens e utilizadas para implantação de bancos genéticos. Contudo, seu sistema de reprodução não é detalhadamente conhecido e não se sabe o grau de representatividade genética contida em sementes oriundas de polinização aberta, em termos de tamanho efetivo que está sendo retido nos bancos. Também não se conhece o potencial de árvores isoladas ou ocorrentes em pequenos grupos em pastagens para servirem como fontes de sementes para restauração ambiental da região.

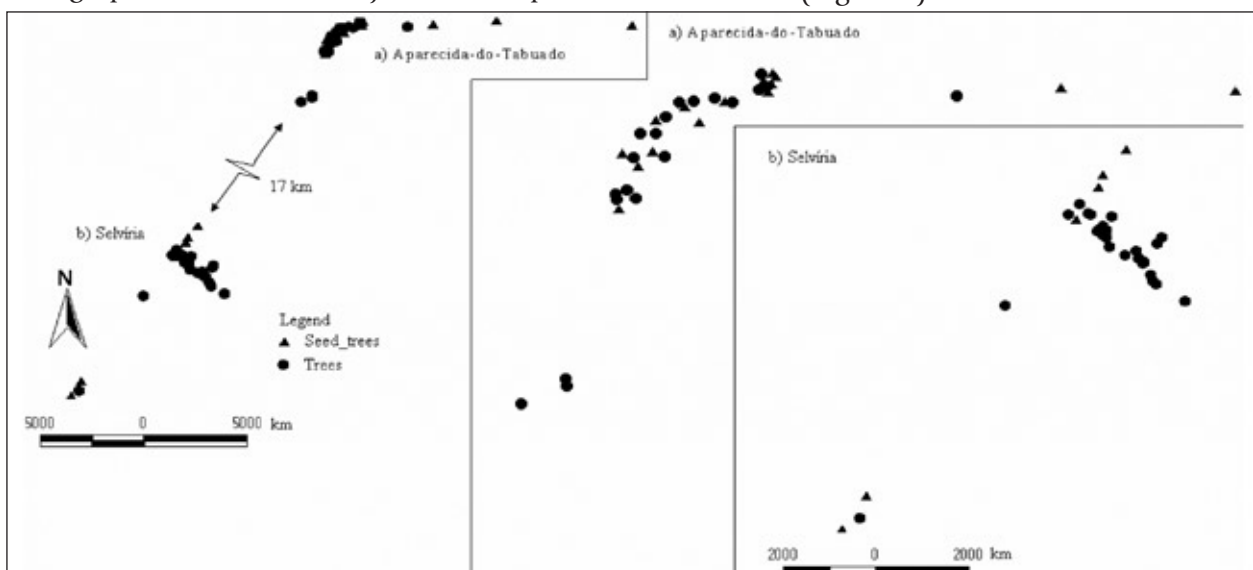
Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o sistema de reprodução de árvores isoladas em pastagens e de populações altamente fragmentadas de *H. stigonocarpa*, em termos de taxa de cruzamento, correlação da paternidade, tamanho de vizinhança reprodutiva, tamanho efetivo na descendência e o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes, visando reter o tamanho efetivo de 100. As hipóteses para esses dois grupos de árvores são: i) como a dispersão

de sementes de *H. stigonocarpa* ocorre predominantemente nas vizinhanças das árvores matrizes, espera-se que árvores localizadas espacialmente próximas entre si apresentem algum grau de parentesco; ii) embora a distância entre algumas árvores isoladas seja superior a 1 km, como a polinização da espécie é efetuada por morcegos, acredita-se que essas árvores não estejam reprodutivamente isoladas, pois estes mamíferos são conhecidos por percorrerem grandes distâncias de vôo, porém o tamanho da vizinhança reprodutiva deve ser restrito a poucos indivíduos e grande parte das sementes dessas árvores deve apresentar parentesco no grau de irmãos-completos; iii) como árvores isoladas em campos e pastagens produzem mais sementes que as ocorrentes agrupadas, possivelmente recebam mais visita dos polinizadores e a taxa de autofecundação, provavelmente, seja menor nessas árvores do que em árvores ocorrentes em grupos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local de estudo e amostragem

O estudo foi conduzido em árvores localizadas ao longo da rodovia BR 158, entre os municípios de Aparecida-do-Tabuado (APT) e Selvíria (SEL), no estado do Mato Grosso do Sul, Centro-oeste do Brasil. O bioma da região é o cerrado com alto grau de perturbação antrópica. A paisagem é caracterizada por grandes extensões de pastagens com alguns poucos fragmentos pequenos. Ao longo da rodovia permanecem algumas árvores de *H. stigonocarpa*, remanescentes da pré-fragmentação (>30 anos), distribuídas em duas populações distantes 24 km entre si (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição espacial de todas as árvores de *H. stigonocarpa* nas populações. (Spatial distribution of all trees in the *H. stigonocarpa* populations)

Ambas as populações são formadas por pequenos agrupamentos e árvores isoladas na pastagem. A área total da população APT é de aproximadamente 4.200 ha, com uma densidade (d) estimada de 0,008 indivíduos por hectare. A população SEL apresenta área aproximadamente de 6.760 ha, com uma densidade de 0,005 indivíduos por ha. Em 2004, muitas dessas árvores não frutificaram, sendo possível coletar sementes de 15 árvores na população APT e em seis da SEL. Na população APT, as sementes foram coletadas de quatro árvores isoladas por até 3,2 km entre si e em 11 árvores ocorrentes em um agrupamento. Na população SEL, sementes foram coletadas em quatro árvores isoladas por até 7 km e em duas árvores ocorrentes em um agrupamento. De cada árvore foram coletados mais de 30 frutos. Nessas populações 42 árvores foram georeferenciadas, inclusive outras que não tiveram sementes coletadas e amostras retiradas para análise de DNA (26).

### Extração do DNA e análise dos microssatélites

A extração do DNA das folhas de árvores adultas e das progênies foi realizada segundo protocolo desenvolvido por Doyle e Doyle (1990) e com adaptações feitas no LARGEA (Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas) do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP). Na amplificação das amostras para a realização das análises foi utilizada a tecnologia da reação de polimerase em cadeia (PCR - *Polymerase Chain Reaction*). A visualizada ocorreu por iluminação ultravioleta (312 nm), sendo a seguir fotografada. Inicialmente foram utilizados nove *primers* de microssatélite, os quais foram desenvolvidos no CENARGEN (Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia), para *Hymenaea courbaril* L (não publicado). Desses nove locos, seis foram transferidos com sucesso para *H. stignocarpa*.

### Análise de parâmetros genéticos

A diversidade genética da geração adulta e das progênies foi caracterizada pelos índices número médio de alelos por loco ( $A$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada segundo a condição de equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $H_e$ ) e número efetivo de alelos por loco [ $\hat{A}_e = 1/(1-\hat{H}_e)$ ]. Também foi estimado o índice de fixação ( $F$ ), conforme Weir (1996):

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

em que,  $n$  é o tamanho da amostra. A significância estatística dos valores médios entre locos do índice  $F$  foi calculada por 10.000 reamostragens *bootstrap*. Para verificar a associação entre alelos de diferentes locos foi realizado o teste de desequilíbrio de ligação de Burrows entre pares de locos. Os índices de diversidade, o índice de fixação, o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg e os *bootstraps* foram calculados, utilizando o programa GDA (LEWIS e ZAYKIN, 2002).

O índice de fixação das progênies ( $\hat{F}_o$ ) foi fracionado nos seus componentes devido a autofecundações ( $\hat{F}^i$ ) e cruzamentos entre parentes ( $\hat{F}_{i_m-t_s}$ ),  $\hat{F}_o = \hat{F}_s^i + \hat{F}_{i_m-t_s}$ , sendo a endogamia advinda de autofecundação ( $\hat{s}$ ) estimada por  $\hat{F}_s^i = 0,5\hat{s}(1+\hat{F}_p)$ , em que  $\hat{F}_p$  é o coeficiente de endogamia na geração parental, e  $\hat{F}_{i_m-t_s}$  devido a endogamia advinda de cruzamento entre parentes estimada por  $\hat{F}_{i_m-t_s} = \hat{\theta}_p$ , de forma que,  $\hat{F}_o = 0,5\hat{s}(1+\hat{F}_p) + (1-\hat{s})\hat{\theta}_p$ . Assim, de posse de  $\hat{F}_o$  e  $\hat{F}_s^i$  pode-se estimar  $\hat{F}_{i_m-t_s}$  por  $\hat{F}_{i_m-t_s} = \hat{F}_o - \hat{F}_s^i$ , sem pressupor o equilíbrio de endogamia. Em equilíbrio de endogamia o coeficiente de endogamia nas progênies foi estimado por  $\hat{F}_o = \hat{s}/(2-\hat{s})$ .

Para a análise da distribuição espacial dos genótipos foi calculado o coeficiente de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) entre pares de árvores dentro de cinco classes de distância iguais a 400 m. O coeficiente de coancestria estimado por marcadores genéticos mede a probabilidade de dois alelos amostrados em dois indivíduos diferentes serem idênticos por estado. O coeficiente de coancestria foi calculado segundo o método proposto por Ritland (1996). O intervalo de confiança a 95% de probabilidade (1,96.EP) do coeficiente médio de coancestria foi estimado para cada classe de distância com base no erro padrão (EP) da média das estimativas, obtido por reamostragem *jackknifed* entre locos. O coeficiente de coancestria e o erro padrão foram estimados usando o programa SPAGeDi versão 1.1 (HARDY e VEKEMANS, 2003).

O sistema de reprodução foi estudado separando-se as árvores em duas classes: i) 15 árvores ocorrentes em dois grupos grandes ou populações (11 em APT e três em SEL); ii) ocorrentes isoladas (quatro árvores) ou nos grupos pequenos de duas a cinco árvores (duas árvores). As análises foram baseadas no modelo misto de reprodução (RITLAND e JAIN, 1981) e cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989). Foram realizadas utilizando o programa

"Multilocus MLTR" (RITLAND, 2004), usando o método de máxima verossimilhança (Algoritmo EM, *Expectation-Maximization*). Os parâmetros estimados foram a taxa populacional de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ); taxa populacional de cruzamento uniloco ( $\hat{t}_s$ ); taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ); correlação de autofecundação ( $\hat{r}_s$ ); correlação multiloco de paternidade ( $\hat{r}_{p(m)}$ ), correlação uniloco de paternidade ( $\hat{r}_{p(s)}$ ) e as frequências alélicas do pólen e dos óvulos cruzados. O desvio padrão (DP) das estimativas dos parâmetros foi obtido por meio de 500 reamostragens *bootstraps* e usado para calcular o erro padrão a 95% de probabilidade,  $IC_{95\%} = 1,96(DP/\sqrt{m})$ , em que  $m$  representa o número de progênies.

Os parâmetros do sistema de reprodução foram utilizados para estimar outros parâmetros demográficos e genéticos. O número efetivo de pais polinizadores ou tamanho da vizinhança reprodutiva foi calculado da correlação de paternidade por  $\hat{N}_{ep} = 1/\hat{r}_p$ . Dos parâmetros do sistema de reprodução foram ainda estimados a proporção média de pares de irmãos de autofecundação ( $\hat{P}_{IA} = \hat{s}$ ), irmãos-completos ( $\hat{P}_{IC} = \hat{t}_m \hat{r}_p$ ) e meios-irmãos [ $\hat{P}_{MI} = \hat{t}_m(1 - \hat{r}_p)$ ] contidos nas progênies e o coeficiente médio de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) entre plantas dentro de progênies,  $\hat{\theta}_{xy} = 0,125(1 + \hat{F}_o)[4\hat{s} + (\hat{t}_m + \hat{t}_m \hat{r}_p)(1 + \hat{r}_p)]$  (RITLAND, 1989).

Para conhecer a representatividade genética das progênies foi estimado o tamanho efetivo de variância ( $\hat{N}_{e(v)}$ ) médio das progênies, calculado da variância amostral das frequências alélicas e utilizando uma população idealizada (infinitamente grande, panmítica, sem parentes, endogamia, seleção, mutação e migração) como referência, conforme propôs Cockerham (1969):

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\theta}_{xy} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_o}{2n}}$$

O número de árvores matrizes ( $m$ ) para a coleta de sementes foi calculado assumindo que infinitas sementes serão coletadas de cada árvore ( $n = \infty$ ) e que o objetivo é reter na amostra total o tamanho efetivo de referência de 100.

$$\hat{m} = \hat{N}_{e(\text{referênciav})} \left[ \hat{\theta}_{xy} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_o}{2n} \right]$$

(SEBBENN, 2003).

$$\text{Se } n = \infty, \text{ então } \hat{m} = \hat{N}_{e(\text{referênciav})} [\hat{\theta}_{xy}].$$

## RESULTADOS

### Locos microssatélites

Os seis locos microssatélites analisados

foram polimórficos (Tabela 1). O número de alelos detectados por loco variou de quatro (Hs33) a 20 (Hs48), com média de 11,67 e totalizando 70 alelos nos seis locos. A heterozigosidade observada variou de 0,133 (Hs34) a 0,556 (Hs48), com média de 0,377 e a heterozigosidade esperada variou de 0,170 (Hs34) a 0,810 (Hs35), com média de 0,633. Os locos Hs33, Hs35, Hs40, Hs48 e Hs49 apresentaram excesso significativo de homozigotos em comparação ao esperado pelo modelo de Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os locos Hs33 e Hs49 nos adultos e Hs34 e Hs49 nas progênies apresentaram indícios de desequilíbrio de ligação ( $P < 0,03$ ). Como as ligações só foram detectadas em uma das gerações, tratam-se possivelmente de ligações fracas ou deriva genética e, por isso, nenhum loco foi excluído da análise do sistema de reprodução.

**Tabela 1.** Características dos locos microssatélites usados em *H. stigonocarpa* ( $n = 310$ ). (Characteristics of microsatellite loci applied in *H. stigonocarpa* ( $n = 310$ ))

| Loco  | k     | n   | $\hat{H}_o$ | $\hat{H}_e$ | $\hat{F}$ |
|-------|-------|-----|-------------|-------------|-----------|
| Hs33  | 4     | 308 | 0,172       | 0,468       | 0,632 **  |
| Hs34  | 7     | 300 | 0,133       | 0,170       | 0,218 ns  |
| Hs35  | 13    | 296 | 0,517       | 0,810       | 0,362 **  |
| Hs40  | 12    | 309 | 0,521       | 0,798       | 0,347 **  |
| Hs48  | 20    | 302 | 0,556       | 0,798       | 0,303 **  |
| Hs49  | 14    | 299 | 0,365       | 0,754       | 0,516 **  |
| Média | 11,67 |     | 0,377       | 0,633       | 0,404 **  |

Para cada loco: número de alelos detectados (k); tamanho amostral (n); heterozigosidade observada ( $H_o$ ); heterozigosidade esperada ( $H_e$ ); \*\*:  $P < 0,01$ ; ns: não significativo.

### Diversidade genética

Um maior e significativo número médio de alelos por loco foi observado nas progênies (11,7) em comparação as árvores adultas (7), sugerindo que a área reprodutiva da população possa ser maior do que a amostrada (Tabela 2). O número efetivo de alelos por loco foi muito menor do que o número médio de alelos por loco e esse não foi significativamente diferente entre adultos (2,65) e progênies (2,73), mostrando que grande parte dos alelos tem baixa frequência. Como o número efetivo de alelos por loco foi similar entre as gerações, a heterozigosidade esperada em equilíbrio de Hardy-Weinberg foi igualmente semelhante e não estatisticamente diferente entre as duas gerações. Por outro lado, a heterozigosidade observada foi maior na população adulta, comparativamente a estimada nas progênies, embora estas não tenham sido estatisticamente diferentes entre si.

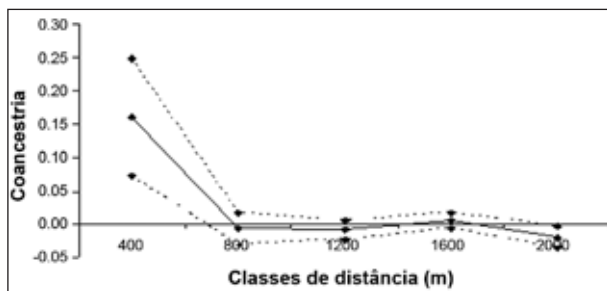
**Tabela 2.** Características dos locos microssatélites para árvores adultas e progênes (média ± erro padrão). (Characteristics of microsatellite loci used for adult and families (mean ± standard error))

| População | n   | $\hat{A}$   | $\hat{A}_e$ | $\hat{H}_e$   | $\hat{H}_o$   |
|-----------|-----|-------------|-------------|---------------|---------------|
| Adultos   | 42  | 7,0 ± 2,29  | 2,65 ± 0,73 | 0,634 ± 0,112 | 0,441 ± 0,077 |
| Progênes  | 264 | 11,7 ± 1,15 | 2,73 ± 0,72 | 0,623 ± 0,084 | 0,367 ± 0,096 |

Tamanho amostral (n); número médio de alelos por locos (A); número efetivo de alelos por locos ( $A_e$ ); heterozigiosidade observada ( $H_o$ ); heterozigiosidade esperada ( $H_e$ ).

### Estrutura genética espacial

A análise da distribuição espacial de genótipos a partir da estimativa do coeficiente de coancestria entre pares de árvores por classe de distância (Figura 2) detectou valor alto e significativo ( $\hat{\theta}_{xy} = 0,157; P < 0,05$ ) entre árvores distantes até 500 m, confirmando a hipótese de que árvores localizadas espacialmente próximas tendem a ser parentes em algum grau.



**Figura 2.** Dendrograma representativo do coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ) em cinco classes de distância entre árvores adultas de *H. stigonocarpa*. (Linhas tracejadas indicam o limite do intervalo de confiança do erro a 95% de probabilidade, estimado por reamostragem jackknifing sobre locos). (Dendrogram plotting the coancestry coefficient ( $\theta_{xy}$ ) in five distance classes between adult trees of *H. stigonocarpa*. (Dotted lines indicate the limits of the 95% confidence interval drawn from jackknifing among loci).

### Taxa de cruzamento

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco foi alta e significativamente diferente da unidade (1,0) em ambas as amostras, variando de  $0,857 \pm 0,019$  ( $P < 0,05$ ) nas árvores isoladas a  $0,873 \pm 0,013$  ( $P < 0,05$ ) nos grupos, mas não diferiu entre árvores isoladas e ocorrentes em grupo (Tabela 3). A taxa de cruzamento uniloco foi inferior e significativamente diferente da multiloco em ambas as amostras de árvores agrupadas ( $\hat{t}_s = 0,571; P < 0,05$ ) e isoladas ( $\hat{t}_s = 0,581; P < 0,05$ ). A diferença entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ) foi alta e estatisticamente diferente de zero nas populações ( $0,301; P < 0,05$ ) e árvores isoladas ( $0,276; P < 0,05$ ), mas não diferentes entre si, sugerindo que ocorrem cruzamentos entre árvores parentes, tanto nas árvores isoladas como ocorrentes em grupo.

A correção de autofecundação foi maior nas árvores isoladas (0,142) do que nas árvores agrupadas, sugerindo maior variação na taxa de cruzamento individual das árvores isoladas (Tabela 3). A taxa de cruzamento individual multiloco por árvore materna variou de 0,572 a 1, sendo que as árvores 4 (0,867), 6 (0,572) e 11 (0,867) da popu-

**Tabela 3.** Estimativa de parâmetros de endogamia e sistema de reprodução em *H. stigonocarpa*. (Estimative of inbreeding and mating system parameters in *H. stigonocarpa*)

| Parâmetro  | Populações    | Isoladas       |
|--|---------------|----------------|
| <b>Sistema de reprodução</b>   |               |                |
| Taxa de cruzamento multiloco: $\hat{t}_m$  | 0,873 (0,013) | 0,857 (0,019)  |
| Taxa de cruzamento uniloco: $\hat{t}_s$  | 0,571 (0,011) | 0,581 (0,018)  |
| Taxa de cruzamento entre parentes: $\hat{t}_m - \hat{t}_s$                             | 0,301 (0,011) | 0,276 (0,015)  |
| Correlação de autofecundação: $\hat{r}_s$  | 0,066 (0,020) | 0,142 (0,037)  |
| Correlação multiloco de paternidade: $\hat{r}_{p(m)}$                                  | 0,632 (0,028) | 0,377 (0,029)  |
| Correlação uniloco de paternidade: $\hat{r}_{p(s)}$                                    | 0,636 (0,028) | 0,367 (0,034)  |
| Cruzamentos entre árvores polinizadoras parentes: $\hat{r}_{p(m)} - \hat{r}_{p(s)}$    | 0,004 (0,018) | -0,010 (0,023) |
| Número médio de árvores polinizadoras: $1/\hat{r}_p$                                   | 1,57          | 2,65           |
| <b>Endogamia e estrutura genéticas</b>   |               |                |
| Índice de fixação na população adulta: $\hat{F}_a$ (n = 34)                            | 0,344 **      | ---            |
| Índice de fixação nas progênes: $\hat{F}_o$  | 0,401 **      | 0,408 **       |
| Endogamia nas progênes por autofecundação: $\hat{F}_s = 0,5\hat{s}(1 + \hat{F}_{mat})$ | 0,063         | 0,071          |
| Endogamia por cruzamento entre parentes: $\hat{F}_{m's} = \hat{F}_o - \hat{F}_s$       | 0,338         | 0,337          |
| Proporção de irmãos de autofecundação: $\hat{P}_{IA} = 1 - \hat{t}_m$                  | 0,127         | 0,143          |
| Proporção de meios-irmãos: $\hat{P}_{MI} = \hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$                  | 0,318         | 0,534          |
| Proporção de irmãos-completos: $\hat{P}_{IC} = \hat{r}_p \hat{t}_m$                    | 0,555         | 0,323          |
| Coancestria média dentro de progênes: $\hat{\theta}_{xy}$                              | 0,221         | 0,201          |
| Tamanho efetivo de variância: $\hat{N}_{ef(v)}$  | 2,04          | 2,21           |
| Número de árvores para reter o tamanho efetivo de 100: m                               | 49            | 46             |

\*\* :  $P < 0,01$ . (??) = erro padrão a 95% de probabilidade.

lação e a árvore 21 (0,838) apresentaram taxa de cruzamento menor e significativamente diferente da unidade, reforçando a hipótese de que a espécie se reproduz por sistema misto de reprodução.

As correlações multiloco e uniloco de paternidade foram altas e significativamente diferentes de zero, tanto nas populações ( $\hat{r}_{p(m)}=0,632$ ;  $\hat{r}_{p(s)}=0,636$ ) como nas árvores isoladas ( $\hat{r}_{p(m)}=0,377$ ;  $\hat{r}_{p(s)}=0,367$ ), demonstrando que grande parte das progênes geradas por cruzamentos correlacionados são irmãos-completos (Tabela 3). A diferença entre as estimativas uniloco e multiloco ( $\hat{r}_{p(s)}-\hat{r}_{p(m)}$ ) não foram significativas, mas ambas as correlações foram significativamente diferentes entre as sementes das populações e das árvores isoladas.

### Endogamia, coancestria e tamanho efetivo de variância

O índice de fixação foi positivo, alto e significativo, tanto nas árvores adultas ( $\hat{F}_a=0,344$ ;  $P<0,01$ ) quanto nas progênes das árvores das populações ( $\hat{F}_a=0,401$ ;  $P<0,01$ ) e isoladas ( $\hat{F}_p=0,408$ ;  $P<0,01$ ), sugerindo a presença de forte endogamia nas amostras (Tabela 3). A partição da endogamia das progênes devido à autofecundação e cruzamentos entre parentes indica que o cruzamento entre parentes foi o principal fator gerador de endogamia, tanto nas árvores ocorrendo nas populações (0,338) como nas isoladas (0,337).

Nas sementes das populações, a maior proporção das progênes era de irmãos-completos (55,5%), seguida de meios-irmãos (31,8%) e de

irmãos de autofecundação (12,7%); e nas sementes de árvores isoladas, a maior proporção era de meios-irmãos (53,4%), seguida de irmãos-completos (32,3%) e irmãos de autofecundação (14,3%). Em concordância, o coeficiente médio de coancestria entre plantas dentro de progênes foi maior nas sementes coletadas das populações e próximo ao esperado em irmãos-completos ( $\hat{\theta}_{xy}=0,221$ ) do que o de sementes coletadas de árvores isoladas ( $\hat{\theta}_{xy}=0,201$ ) e conseqüentemente o tamanho efetivo de variância estimado na amostra dos agrupamentos foi menor ( $\hat{N}_{e(v)}=2,04$ ) do que o coletado de árvores isoladas ( $\hat{N}_{e(v)}=2,21$ ). O número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes, visando reter o tamanho efetivo de 100 foi estimado estar entre 46 e 49 árvores.

### DISCUSSÃO

Os níveis de diversidade genética detectados em *H. stigonocarpa*, em termos do número médio de alelos por locos (11,7) pode ser considerado alto, se comparado à média de 17 espécies arbóreas tropicais estudadas por pelo menos quatro locos microssatélites (8,0; Tabela 4). Contudo, em termos de heterozigosidade esperada (0,633) e observada (0,377), os níveis de diversidade detectados nas populações podem ser considerados como baixos ( $\hat{H}_e=0,65$ ;  $\hat{H}_o=0,59$ ), sendo que a heterozigosidade observada só foi superior à relatada em *Vitellaria paradoxa* (SA-

**Tabela 4.** Parâmetros genéticos estimados para espécies arbóreas tropicais com base em locos microssatélites: *nl* = número de locos investigados; *A* = número médio de alelos por loco;  $\hat{H}_e$  = heterozigosidade esperada;  $\hat{H}_o$  = heterozigosidade observadas. (Genetic parameters calculated for tropical tree species based on microsatellite loci. *nl* = number of loci investigated; *A* = average number of alleles per locus;  $\hat{H}_e$  = expected heterozygosity;  $\hat{H}_o$  = observed heterozygosity)

| Espécie                       | nl | A    | $\hat{H}_e$ | $\hat{H}_o$ | Referência                          |
|-------------------------------|----|------|-------------|-------------|-------------------------------------|
| <i>Caryocar braziliense</i>   | 10 | 10,6 | 0,856       | 0,765       | Collevatti <i>et al.</i> (2001)     |
| <i>Dicorynia guianensis</i>   | 6  | 7,3  | 0,629       | 0,621       | Latouche-Hallé <i>et al.</i> (2003) |
| <i>Dinizia excelsa</i>        | 5  | 18,2 | 0,611       | 0,651       | Dick <i>et al.</i> (2003)           |
| <i>Dipterocarpus tempehes</i> | 6  | 12,5 | 0,808       | 0,736       | Kenta <i>et al.</i> (2004)          |
| <i>Eugenia dysenterica</i>    | 7  | 3,1  | 0,442       | 0,458       | Zucchi <i>et al.</i> (2003)         |
| <i>Hopea dryobalanides</i>    | 5  | 5,6  | 0,678       | 0,644       | Takeushi <i>et al.</i> (2004)       |
| <i>Melaleuca alternifolia</i> | 5  | 19,6 | 0,781       | 0,724       | Rosseto <i>et al.</i> (1999)        |
| <i>Manilkara huberi</i>       | 12 | 6,4  | 0,813       | 0,688       | Azevedo <i>et al.</i> (2005)        |
| <i>Neolalanocarpus heimii</i> | 4  | 8,8  | 0,776       | 0,675       | Konuma <i>et al.</i> (2000)         |
| <i>Pithecellobium elegans</i> | 4  | 6,5  | 0,645       | 0,710       | Chase <i>et al.</i> (1996)          |
| <i>Swietenia humilis</i>      | 10 | 7,1  | 0,524       | 0,482       | White <i>et al.</i> (1999)          |
| <i>Swietenia macrophylla</i>  | 8  | 9,5  | 0,781       | 0,751       | Lemes <i>et al.</i> (2003)          |
| <i>Swietenia macrophylla</i>  | 7  | 7,3  | 0,657       | 0,559       | Novick <i>et al.</i> (2003)         |
| <i>Theobroma cacao</i>        | 16 | 4,0  | 0,540       | 0,413       | Motamayor <i>et al.</i> (2002)      |
| <i>Theobroma cacao</i>        | 11 | 3,9  | 0,566       | 0,347       | Sereno <i>et al.</i> (2006)         |
| <i>Vitellaria paradoxa</i>    | 8  | 2,3  | 0,512       | 0,306       | Sanou <i>et al.</i> (2005)          |
| <i>Vouacapoua americana</i>   | 9  | 4,1  | 0,506       | 0,467       | Dutech <i>et al.</i> (2004)         |
| Média                         |    | 8,0  | 0,650       | 0,590       |                                     |

NOU *et al.*, 2005). O alto estado de fragmentação e o pequeno tamanho das populações pode ser a causa, mas para responder esta questão seria necessário pelo menos comparar os resultados com outros obtidos a partir de populações grandes e contínuas da mesma espécie.

O maior e significativo número médio de alelos por loco observado nas progênies ( $\hat{A}=11,7$ ) em comparação as árvores adultas ( $\hat{A}=7$ ), sugere que a área reprodutiva da população pode ser maior do que a amostrada. Por outro lado, a heterozigosidade observada foi maior na população adulta, comparativamente à estimada nas progênies, sugerindo que durante o processo de reprodução possa ter havido algum fator gerador de endogamia, como autofecundações e cruzamentos endogâmicos, embora essas diferenças na geração adulta e suas progênies não tenham sido significativas.

As populações apresentaram forte estrutura genética espacial, com árvores próximas até 500 m apresentando coancestria entre si, próximas ao esperado entre indivíduos meios-irmãos (0,125). A forte estrutura genética espacial observada pode ser atribuída à dispersão de sementes nas vizinhanças das árvores maternas, favorecendo o estabelecimento de indivíduos parentes próximos e possibilitando a ocorrência de cruzamentos entre parentes, gerando endogamia biparental, o que foi confirmado pela decomposição da endogamia total observada nas progênies nos seus componentes devido à endogamia advinda de autofecundação e cruzamentos entre parentes. A alta taxa de endogamia biparental observada, tanto em sementes coletadas de árvores isoladas como ocorrentes nas populações, reforça a hipótese de forte estrutura genética espacial e sugere ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade na espécie. Tal fato deve-se à quase ausência de dispersores de sementes, como os grandes mamíferos, que faziam esta função quando não havia esta forte perturbação antrópica.

Não existem estimativas diretas da taxa de cruzamento em *H. stigonocarpa* e este é o primeiro estudo baseado em marcadores genéticos que relata tais estimativas. Gibbs *et al.* (1999) com base em cruzamentos controlados classificaram *H. stigonocarpa* como de cruzamento. As estimativas aqui obtidas para a taxa de cruzamento multiloco foi alta, tanto nas árvores ocorrentes em grupo (0,873) como isoladas (0,857), mostrando que a espécie se reproduz predominantemente por cruzamentos, mas com certa taxa de autofecundação

(Tabela 4), confirmando a conclusão de Gibbs *et al.* (1999). Esses autores também relatam que a espécie pode ser autocompatível, visto que em seus estudos o tubo polínico crescia dentro do ovário, embora óvulos autofecundados necessassem menores do que os cruzados e muitos morriam até oito dias da antese. As taxas de cruzamento significativamente menores do que a unidade e as altas taxas de cruzamento entre parentes, aqui detectadas, concordam com os resultados de Gibbs *et al.* (1999) e reforçam a hipótese de que a espécie é autocompatível.

Aparentemente, árvores isoladas de *H. stigonocarpa* cruzam com menor taxa do que árvores agrupadas, embora a diferença entre as estimativas não tenha sido estatisticamente significativa. Como comentado na introdução, este mesmo padrão tem sido descrito em outros estudos comparando a estimativa da taxa de cruzamento em árvores isoladas ou ocorrendo em pequenos grupos em fragmentos florestais com árvores ocorrendo em populações contínuas (CASCANTE *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2003; ALDRICH e HAMRICK, 1998; DICK *et al.*, 2003). Portanto, podem-se esperar maiores níveis de endogamia em sementes coletadas de árvores isoladas.

Em populações de espécies autocompatíveis, onde os genótipos encontram-se espacialmente estruturados, também pode ser gerada endogamia por cruzamentos entre parentes. Os resultados indicam que a população apresenta forte estrutura genética espacial, com árvores distantes entre si, em média até 500 m, parentes provavelmente no grau de meios-irmãos. Adicionalmente, a diferença entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco ( $\hat{f}_m - \hat{f}_s$ ) foi alta tanto nas sementes coletadas dos agrupamentos ( $\hat{f}_m - \hat{f}_s = 0,301$ ) como nas árvores isoladas ( $\hat{f}_m - \hat{f}_s = 0,267$ ), sugerindo que uma expressiva e significativa proporção dos cruzamentos ocorreu entre árvores parentes. Ambas as taxas de autofecundação e cruzamentos entre parentes explicam a alta endogamia detectada nas sementes.

Um alto e significativo índice de fixação foi detectado tanto nas árvores adultas como nas sementes coletadas das populações como em árvores isoladas, sugerindo desvios das proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Altos índices de fixação podem ocorrer devido à presença de alelos nulos, autofecundação, cruzamentos endogâmicos e devido ao efeito Wahlund, causado pela presença de estruturação das populações. No presente caso, todos estes efeitos podem ter contribuído. A análise dos locos da amostra total



(n=310) pelo programa CERVUS (MARSCHALL *et al.*, 1998) detectou a presença de alelos nulos segregando nos locos, em frequência variando de 0,108 (Hs34) a 0,475 (Hs33), mostrando que alelos nulos podem ter contribuído em parte para os níveis de endogamia detectados. A taxa de cruzamento significativamente diferente da unidade nas amostras e as altas taxas de cruzamentos entre parentes (mínimo 27,6%) também podem explicar os altos níveis de endogamia observados nas sementes, como já discutido. Assumindo que toda a endogamia veio do sistema de reprodução e partindo a endogamia total em seus componentes devido à autofecundação e cruzamento entre parentes, dos 41,2% da endogamia total nas progênies das árvores das populações e dos 40,3% de endogamia das árvores isoladas, 6,3% e 7,1%, respectivamente, foram aparentemente gerados por autofecundação e 33,4% e 33,7%, respectivamente, por cruzamentos biparentais. Uma endogamia por cruzamento entre parentes de aproximadamente 33% poderia ser gerada pelo cruzamento entre indivíduos irmãos-completos endogâmicos. Ainda, assumindo o equilíbrio de endogamia, a taxa de autofecundação observada poderia ter gerado endogamia de no máximo 6,8% e 7,7%, reforçando que a grande parte da endogamia veio de cruzamentos endogâmicos e não por autofecundações.

Outra causa para o alto índice de fixação poderia ser o efeito Wahlund devido à estruturação genética das populações. As árvores avaliadas encontram-se geneticamente estruturadas na população (Figura 2). Além do mais, progênies de ambas as populações foram analisadas como uma simples população, o que também pode ter contribuído para o efeito Wahlund, e o alto valor observado para o índice de fixação.

A estimativa da correlação multiloco de paternidade indica a ocorrência de altas taxas de cruzamentos correlacionados nas amostras, em especial nas populações e demonstra que grande parte das progênies advindas de cruzamentos são parentes no grau de irmãos-completos. As altas taxas de cruzamentos biparentais detectadas podem ter sido causadas por variações na fenologia de florescimento, reduzindo o tamanho efetivo da vizinhança reprodutiva, ou devido a pequenas vizinhanças reprodutivas, ou ainda, baixa densidade de polinizadores. Variações na fenologia do florescimento podem restringir o número de parentais que participam da reprodução, em especial em populações pequenas, como no presente caso, e forçam a ocorrência

de cruzamentos biparentais. O possível isolamento e o pequeno tamanho das populações associado à baixa densidade de indivíduos por área (<1 ha) também pode restringir a vizinhança reprodutiva efetiva e favorecer a ocorrência de cruzamentos biparentais.

A correlação de paternidade foi significativamente menor nas árvores isoladas, comparativamente à observada nas árvores ocorrentes em grupos. Este resultado era inesperado, considerando os obtidos em outros estudos comparando a estimativa da correlação de paternidade em árvores isoladas e ocorrentes em grupos. Igualmente, Cascante *et al.* (2002) compararam a estimativa da correlação de paternidade entre e dentro de frutos de *Samanea saman* coletados de 20 árvores localizadas em florestas contínuas e em 17 coletados em árvores isoladas. A correlação de paternidade foi maior entre ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,99$ ) e dentro ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,120$ ) de frutos de árvores isoladas comparativamente a entre ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,771$ ) e dentro ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,027$ ) de frutos de árvores ocorrentes em contínuos florestais. Ainda, Moraes *et al.* (2004) compararam a estimativa da correlação de paternidade em sementes de 30 árvores de uma população natural de *Myracrodruon urundeuva* com sementes de 25 árvores isoladas no mesmo ambiente do presente estudo e encontraram maior correlação de paternidade nas árvores isoladas ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,671$ ) do que na população natural ( $\hat{r}_{p(s)} = 0,371$ ). Os resultados aqui obtidos, discordam dos previamente registrados. Uma explicação para o resultado aqui observado é de que os morcegos polinizadores forrageiam predominantemente entre árvores localizadas espacialmente próximas, aumentando a correlação de paternidade, enquanto as árvores isoladas podem estar recebendo contribuição mais diversificada de pólen, por servirem de "trampolim" entre outras árvores isoladas ou populações, resultando em menor correlação de paternidade e maior tamanho de vizinhança efetivamente reprodutiva. O tamanho médio da vizinhança reprodutiva ( $N_{ep}$ ), estimado da correlação de paternidade foi de apenas dois vizinhos efetivamente polinizaram as árvores ocorrentes em grupos e de três para as árvores isoladas.

A presença de autofecundações, cruzamentos biparentais e cruzamentos endogâmicos afetam a estrutura das progênies. Na amostra de sementes das árvores agrupadas, devido à alta proporção de cruzamentos biparentais, a maior proporção das progênies era de irmãos-completos (65,9%), seguida de meios-irmãos (20,9%). Na

amostra de árvores isoladas a maior proporção observada foi de meios-irmãos. Em consequência disso, um maior coeficiente de coancestria foi observado dentro das progênes de árvores ocorrentes em grupo ( $\hat{\theta}_{xy}=0,221$ ) do que em árvores isoladas ( $\hat{\theta}_{xy}=0,201$ ). Este coeficiente é muito superior ao geralmente assumido em programas de melhoramento genético, baseados em progênes de polinização aberta (0,125). Portanto, assumir que progênes de polinização aberta de *H. stigonocarpa* são meios-irmãos, na estimativa de parâmetros genéticos em testes de progênes, irá gerar superestimativas nos cálculos da variância genética aditiva, herdabilidade e ganhos na seleção.

Para atividades de coleta de sementes, tanto para fins de conservação genética como implantação de testes de progênes e reflorestamentos ambientais, a análise dos resultados indica a necessidade de maiores tamanhos amostrais do que seriam requeridos se as populações fossem perfeitamente panmíticas. Os coeficientes de coancestria geraram tamanhos efetivos de variância muito inferiores ao esperado em progênes de populações panmíticas (4). O tamanho efetivo de variância nas sementes de árvores agrupadas ( $\hat{N}_{e(v)}=2,04$ ) e nas sementes de árvores isoladas ( $\hat{N}_{e(v)}=2,21$ ) foi 49% e 44,7%, respectivamente, inferiores ao esperado em progênes de meios-irmãos (4). Portanto, para coleta de sementes para implantação de bancos de germoplasma, testes de progênes e restauração florestal são necessários maiores tamanhos amostrais, do que seriam necessários caso as populações fossem grandes e a reprodução fosse perfeitamente aleatória. Assim, por exemplo, para reter nas amostras o tamanho efetivo de referência de 100, seria necessária a coleta de sementes em 46 árvores isoladas ou 49 árvores ocorrentes nos agrupamentos grandes.

## CONCLUSÃO

- As populações apresentam menores níveis de diversidade genética do que a geralmente detectada em outras espécies, forte endogamia e estrutura genética espacial intrapopulacional;
- *H. stigonocarpa* se reproduziu pelo sistema misto de reprodução (cruzamentos e autofecundações), com predomínio de cruzamentos;
- Os cruzamentos nas populações não ocorreram de forma aleatória, sendo que a reprodução envolveu altas taxas de cruzamentos correlacionados, cruzamentos endogâmicos e autofe-

cundações e, conseqüentemente, progênes de polinização aberta apresentam alta proporção de irmãos-completos, coeficiente de coancestria superior ao esperado em progênes de meios-irmãos e baixo tamanho efetivo de variância;

- A estimativa de parâmetros genéticos de caracteres quantitativos em testes de progênes com material originado das populações estudadas deve ser baseada em modelos biométricos que acomodem desvios das pressuposições de cruzamentos aleatórios;

- Para a coleta de sementes nas populações estudadas visando à conservação genética, implantação de testes de progênes e restauração ambiental, se o objetivo for a retenção do tamanho efetivo de 100, é necessária a coleta de sementes em pelo menos 46 árvores-matrizes.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos técnicos Alexandre M. da Silva, Alonso A. da Silva e José Cambuim, que ajudaram nas coletas de campo; à Dra. Karina Martins e às Biólogas: Elza M. Ferraz, Gabriela R. Defavari e Maria A. Moreno e Selma M. B. Moraes pelo auxílio nas análises laboratoriais.

Agradecem também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science*, Washington, v.281, p.103-105, 1998.

AZEVEDO, V.C.R.; VISON, C.C.; CIAMPI, A.Y. Twelve microsatellite loci in *Manilkara huberi* (Ducke) Standl. (Sapotaceae), an Amazonian timber species. *Molecular Ecology Notes*, v.5, p.13-15, 2005.

BAWA, K.S.; PERRY, D.R.; BEACH, J.H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees: 1- sexual systems and incompatibility mechanisms. *American Journal of Botany*, New York, v.72, n.3, p.331-45, 1985.

BOTELHO, S.A.; FERREIRA, R.A.; MALAVASI, M.M.; DAVIDE, A.C.; MAYWORM, M.A.S.; NASCIMENTO, A.S.; SALATINO, A. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) – fabaceae. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.22, n.1, p.144-152, 2000.

- CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J.J. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, Cambridge, v.16, n.1, p.137-147, 2002.
- CHASE, M.; MOLLER, R.C.; KESSELI, R.; BAWA, K.S. Distant gene flow in tropical tree. **Nature**, London, v.383, p.398-399, 1996.
- COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lancaster, v.23, p.72-84, 1969.
- COLLEVATTI, R.G.; GRATTAPPAGLIA, D.; HAY, J.D. High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliensis*, and endangered tropical tree species. **Heredity**, London, v.86, p.60-67, 2001.
- DEGEN, B.; BANDO, E.; CARON, H. Limited pollen dispersal and biparental inbreeding in *Symphonia globulifera* in French Guiana. **Heredity**, London, n.93, p.585-591, 2004.
- DICK, C.W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of Neotropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and *Africa honeybees* in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, v.12, p.753-764, 2003.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.I. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rochester, v.12, p.13-15, 1990.
- DUTECH, C.; JOLY, H.I.; JARNER, P. Gene flow, historical population dynamics and genetic diversity within French Guiana populations of a rainforest tree species, *Vouacapoua americana*. **Heredity**, London, v.92, p.69-77, 2004.
- FUCHS, E.J.; LOBO, J.A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, Cambridge, v.17, p.149-157, 2003.
- GIBBS, P.E.; OLIVEIRA, P.E.; BIANCHI, M.B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinoideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.160, p.72-78, 1999.
- HARDY, O.; VEKEMANS, X. **SPAGeDI 1.1: a program for spatial pattern analysis of genetic diversity. Version for Windows 95**. 2003. Disponível em: <<http://www.ulb.ac.be/sciences/ecoevol/software.html>>. Acesso em 25 março 2006.
- JAMES, T.; VEGE, S.; ALDRICH, P.; HAMRICK, J.L. Mating systems of three tropical dry forest tree species. **Biotropica**, Washington, v.30, p.587-594, 1998.
- JUMP, A.S.; PENUELAS, J. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.103, p.8096-8100, 2006.
- KENTA, T.; ISAGI, Y.; NAKAGAWA, M.; YAMASHITA, M.; NAKASHIZUKA, T. Variation in pollen dispersal between years with different pollination conditions in a tropical emergent tree. **Molecular Ecology**, v.13, p.3575-3584, 2004.
- KONUMA, A.; TSUMURA, Y.; LEE, C.T.; LEE, S.L.; OKUDA, T. Estimation of gene flow in tropical-rain forest tree *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae), inferred from paternity analysis. **Molecular Ecology**, v.9, p.1843-1852, 2000.
- LATOUCHE-HALLÉ, C.; RAMBOERA, A.; BANDO, E.; CARON, H.; KREMER, A. Nuclear and chloroplast genetic structure indicate fine-scale spatial dynamics in a neotropical tree population. **Heredity**, London, v.91, p.181-190, 2003.
- LEMES, M.R.; GRIBEL, R.; PROCTOR, J.; GRATTAPPAGLIA, D. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. **Molecular Ecology**, v.12, p.2875-2883, 2003.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis: version 1.1 for Windows 95/NT**. 2002 Disponível em: <http://www.lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/>. Acesso em 23 março 2006.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.
- LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resources impacts of habitats loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, London, v.95, p.255-273, 2005.

- MARSCHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUIK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7, p.639-655, 1998.
- MORAES, M.L.T.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Correlated mating in dioecious tropical tree species, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Forest Genetics**, Zvolen, v.11, n.1, p.53-59, 2004.
- MOTAMAYOR, J.C.; RISTERUCCI, A.M.; LOPEZ, P.A.; ORTIZ, C.F.; MORENO, A.; LANAUD, C. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. **Heredity**, London, v.89, p.308-386, 2002.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. **Biotropica**, Washington, v.24, p.99-101, 1992.
- NASON, J.D.; HAMRICK, J.L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. **Journal of Heredity**, Washington, v.88, p.264-276, 1997.
- NOVICK, R.R.; DICK, C.W.; LEMES, M.R.; NAVARRO, C.; CACCONE, A.; BERMINGHAM, E. Genetic structure of Mesoamerica populations of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. **Molecular Ecology**, v.12, p.2885-2893, 2003.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v.43, n.4, p.848-859, 1989.
- RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetics Resources**, v.67, p.175-185, 1996.
- RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR. Version 3.1.** Vancouver: University of British Columbia, 2004. Disponível em: <[kritland@interchange.ubc.ca](mailto:kritland@interchange.ubc.ca)>. Acesso em: 15 janeiro 2006
- 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.
- ROSSETO, M.; SLATE, R.W.; BAVERSTOCK, P.R.; HENRY, R.J.; LEE, L.S. Microsatellite variation and assessment of genetic structure in tea (*Melaleuca alternifolia* - Myrtaceae). **Molecular Ecology**, v.8, p.633-643, 1999.
- SANOUE, H.; LOVETT, P.N.; BOUVET, J.N. Comparison of quantitative and molecular variation in agroforestry populations of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Geartn) in Mali. **Molecular Ecology**, v.14, p.2601-2610, 2005.
- SEBBENN, A.M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, p.109-124, 2003.
- SERENO, M.L.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; VENCOVSKY, R.; FIGUEIRA, A. Genetic diversity and natural population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers. **Conservation Genetics**, v.7, n.1, p.13-24, 2006.
- SILVA, J.A.; SILVA, D.B.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA-CPAC: EMBRAPA-SPI, 1994. 166p.
- TAKEUSHI, Y.; ISHIKAWA, S.; KONUMA, A.; TOMARU, N.; NIYAMA, K.; MUHAMMAD, M.; TSUMARA, Y. Comparison of the fine-scale genetic structure of three dipterocarp species. **Heredity**, London, v.93, p.323-328, 2004.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer, 1996. 445p.
- WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, v.8, p.1899-1909, 1999.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v.11, p.413-418, 1996.
- ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.P.; PINHEIRO, J.B.; CHAVES, L.J.; COELHO, A.S.; VENCOVSKY, R. Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.26, p.449-457, 2003.

Recebido em 18/08/2006  
Aceito para publicação em 02/07/2007