

Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*Mating system in natural populations of *Peltophorum dubium*Edson Seizo Mori<sup>1</sup>, Alexandre Magno Sebbenn<sup>2</sup>,  
Evandro Vagner Tambarussi<sup>3</sup> e Raymond Paul Guries<sup>4</sup>**Resumo**

Os modelos de reprodução mista e de cruzamentos correlacionados foram utilizados para a análise do sistema de reprodução em quatro populações naturais de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert do oeste do Estado de São Paulo. Foram avaliados por eletroforese de isoenzimas de 19 a 33 progênies de polinização aberta por população. A comparação das frequências alélicas do pólen e dos óvulos revelou diferenças significativas em pelo menos 50% dos locos em cada população, indicando fortes desvios de cruzamentos aleatórios, possivelmente devido a cruzamentos correlacionados, autofecundações e cruzamentos entre indivíduos aparentados. A comparação do índice de fixação estimado nas árvores maternas ( $\hat{F}_m$ , variando de 0,009 a 0,285) e progênies ( $\hat{F}_p$ , variando de 0,127 a 0,364) sugere a presença de seleção contra homozigotos entre a fase de plântulas e a fase adulta. A estimativa da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) variou de 0,557 a 0,924, indicando que a espécie tem um sistema misto de reprodução. A diferença entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco ( $t_m - t_s$ ) foi alta e significativa nas quatro populações, com valores variando de 0,092 a 0,111, indicando que ocorreram cruzamentos entre indivíduos aparentados, provavelmente devido a existência de estruturação genética espacial intra-populacional em cada população. O coeficiente médio de coancestria ( $\Theta$ ) dentro de progênies variou de 0,147 a 0,251, confirmando que as progênies são compostas de diferentes graus de parentescos. Os resultados são discutidos sob a ótica de melhoramento e conservação genética da espécie.

**Palavras-chave:** Canafístula, coancestria, cruzamentos correlacionados, endogamia, isoenzimas, taxa de cruzamento.

**Abstract**

A Multi-locus mixed mating model and correlated mating model were used to analyze the mating system of four natural populations of *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert from Western São Paulo State, Brazil. Open pollinated seeds were collected from 19 to 33 seed-trees per population and evaluated by allozyme electrophoresis analysis. Significant differences between pollen and ovule gene frequencies were detected in more than 50% of loci in each population, indicating deviations from random mating, probably due to correlated mating, self-fertilizations and mating among relatives. The comparison the fixation index estimated from seed trees ( $\hat{F}_m$ , ranged from 0.009 to 0.285) with their progenies ( $\hat{F}_p$ , ranged from 0.127 to 0.364) suggested selection against inbreeding between offspring of adult stages. The estimates of multi-locus outcrossing rate ( $t_m$ ) ranged from 0.557 to 0.924, indicating that the species has a mixed-mating system. Differences between multi-locus and single-locus outcrossing rate ( $t_m - t_s$ ) was positive and significantly different from zero for all populations, with values ranging from 0.092 to 0.111, suggesting mating among relatives within the populations, probably due to the presence of intra-population spatial genetic structure. The mean coefficient of co-ancestry ( $\Theta$ ) within progenies ranged from 0.147 to 0.251; confirming that the progenies are compounded by mixtures of different kinds of relatedness. The results are discussed from the view of genetic improvement and conservation of the species.

**Keywords:** Canafístula, co-ancestry, correlated mating, inbreeding, isozymes, outcrossing rate.

<sup>1</sup>UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Fazenda Lageado, CEP - 18603-970, Botucatu, SP. E-mail: [esmori@fca.unesp.br](mailto:esmori@fca.unesp.br)

<sup>2</sup>Instituto Florestal de São Paulo, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, E-mail: [alexandresebbenn@yahoo.com.br](mailto:alexandresebbenn@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>USP - Universidade de São Paulo Escola / ESALQ - Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, Piracicaba, SP, 13418-900, Brazil. E-mail: [evtambarussi@yahoo.com.br](mailto:evtambarussi@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>University of Wisconsin-Madison, Department of Forest and Wildlife Ecology, Madison, Wisconsin 53706-1598; E-mail: [rpguries@wisc.edu](mailto:rpguries@wisc.edu)

## INTRODUÇÃO

*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. é uma espécie arbórea de ocorrência ampla nas florestas tropicais e subtropicais da América do Sul. Sua distribuição natural ocorre entre as latitudes de 7° S (estado da Paraíba) a 30° S (estado do Rio Grande do Sul) no Brasil, atingindo o seu limite sul a 30° 25' S no Uruguai. A espécie é útil para produção de madeira serrada e roliça, energia (carvão), fármacos, uso ornamental e para reflorestamentos ambientais (CARVALHO, 1994). Contudo, apesar de sua grande utilidade, a espécie está na lista oficial da FAO das espécies arbóreas em risco de extinção (FAO, 1996). Geralmente, populações da espécie apresentam baixa densidade populacional (2 a 6 árvores por hectare, CARVALHO, 1994). Suas flores são hermafroditas, polinizadas por abelhas e outros insetos pequenos e seus frutos são sâmaras com 4 a 9,5 cm de comprimento e 1 a 2,5 cm de largura, contendo de 1 a 4 sementes (CARVALHO, 1994). Além disso, muito pouco se conhece sobre a diversidade genética e sistema de reprodução da espécie, aspectos estes fundamentais para a conservação genética, bem como para o melhoramento genético da espécie. De fato, não existe nenhum estudo genético sobre o seu sistema de reprodução e nada se sabe sobre a taxa de cruzamento, cruzamentos correlacionados e coancestria e tamanho efetivo dentro de progênies de polinização aberta em populações de *P. dubium*.

O sistema de reprodução pode alterar a dinâmica genética das populações, influenciando a sua composição genética nas gerações subseqüentes (OOSTERMEIJER et al., 2003). Métodos baseados em análises moleculares elucidam pontos importantes para o manejo e conservação de populações, como o sistema de reprodução, a diversidade genética e estrutura genética espacial, dentre outros (DAYANANDAN et al., 1999; LEMES et al., 2003; MORAES; SEBBENN, 2011). Um ponto importante a ser conhecido é a forma como as espécies recombina seus genes a cada evento reprodutivo e formam as populações descendentes. Tais informações são de fundamental importância para o delineamento de estratégias para a conservação e uso dessas espécies, permitindo realizar predições mais realistas sobre tamanhos amostrais para a conservação genética, bem como adotar estratégias mais eficientes de seleção, baseadas no conhecimento da coancestria média ( $\theta_{xy}$ ) entre plantas dentro de progênies de polinização aberta. O sistema

de reprodução determina a magnitude da coancestria e da endogamia na população descendente. Em plantas hermafroditas o sistema de reprodução pode combinar autofecundações com cruzamentos e a parte referente a cruzamentos, pode ocorrer de forma aleatória ou sistemática (cruzamentos correlacionados). Como consequência, progênies de polinização aberta podem ser compostas por misturas de indivíduos com diferentes graus de parentescos como, irmãos de autofecundação, irmãos-completos, meios-irmãos e irmãos de autofecundação e cruzamento (SQUILLACE, 1974; RITLAND, 1989). O sistema de reprodução pode ser caracterizado pelos modelos de cruzamentos mistos (RITLAND; JAIN, 1981) e cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989). Posteriormente, parâmetros do sistema de reprodução como taxa de autofecundação, taxa de cruzamento e correlação de paternidade podem ser utilizados para estimar a coancestria e o tamanho efetivo dentro de progênies. Estes dois últimos parâmetros são fundamentais para determinar o número de árvores matrizes para a coleta de sementes em programas de melhoramentos e conservação genética, bem como para recuperação ambiental.

Este trabalho reporta os resultados da análise do sistema de reprodução e parâmetros de endogamia e coancestria de quatro populações de *P. dubium* avaliada em sete locos isoenzimáticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Sementes de polinização aberta foram coletadas em quatro populações naturais de *P. dubium* na região oeste do estado de São Paulo, nos Municípios de Assis e Presidente Prudente (Parque Estadual do Morro do Diabo). Na região de Assis foram amostradas três populações dentro das coordenadas geográficas 22° 35'S e 50° 25'W, em altitudes que variam entre 520 a 580 m. A população Presidente Prudente está localizada nas coordenadas geográficas 22° 31'S e 52° 10'W, em altitudes que variam entre 520 a 580 m. Na população Assis, foram coletadas sementes em sete a 11 árvores em oito subpopulações e, na população Presidente Prudente foram coletadas sementes de cinco a 11 árvores em cinco subpopulações. O total de progênies avaliadas foi de 105. Cinco sementes de cada árvore foram analisadas por eletroforese de isoenzimas. Para a análise do sistema de reprodução, as subpopulações de Presidente Prudente foram consideradas como uma única

população, composta 33 progênies. As progênies da população de Assis foram divididas em três grupos, com base na proximidade das subpopulações e objetivando obter-se um conjunto amostral (aproximadamente 200 plantas) que permitisse a obtenção de estimativas confiáveis de parâmetros do sistema de reprodução. Estes grupos foram denominados populações Assis Sul, Assis Leste e Assis Oeste e foram formadas por 26, 19 e 27 progênies (total de 72 progênies), respectivamente.

### Extração das enzimas e eletroforese

Preliminarmente foram testados 18 sistemas isoenzimáticos (ACP, ACO, ADH, AAT, UGPP, 6PG, MDH, PGM, PGI, SKDH, GDH, IDH, ME,  $\alpha$ EST,  $\beta$ EST, G2D, LAP e CAT). Desses, foram escolhidos os sete sistemas que apresentaram zonas de variação nos géis com padrão que permitisse a interpretação dos zimogramas (Tabela 1). As isoenzimas foram extraídas de sementes recém germinadas. A maceração foi feita a temperatura aproximada de 5° C, a fim de evitar a desnaturação das isoenzimas. A eletroforese horizontal ocorreu em gel de amido a 12%, realizada em câmara fria e com variação de temperatura que ocorreu entre 1 a 5° C. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi modificado dos protocolos de Clayton e Tretiak (1972), Soltis et al. (1983); Cheliak e Pitel (1984) e Yamada e Guries (1989). Os protocolos utilizados para a revelação das isoenzimas foram baseados em Yamada e Guries (1989); Stuber et al. (1988); Soltis et al. (1983). Em um prévio estudo da herança e equilíbrio de ligação (Mori et al., dados não publicados) observou-se que o loco Pgm-2 não segregava de forma mendeliana, além dos locos Est-3 e Est-4 estarem envolvidos, aparentemente, em mesmo grupo de ligação e, por isso, um desses (Est-4) foi excluído da análise.

### Análises estatísticas

O sistema de reprodução foi analisado com base nos modelos de cruzamento misto de Ritland e Jain (1981) e cruzamentos correlacionados de Ritland (1989), usando o programa MLTR (RITLAND, 2002). O programa MLTR estima as frequências alélicas tanto do pólen como dos óvulos subtraindo do genótipo das sementes os alelos maternos, de forma que se tem tanto a frequência dos alelos maternos (óvulos) e paternos (pólen). Os parâmetros estimados foram o índice de fixação nas árvores maternas ( $F_m$ ), taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ), taxa de cruzamento uniloco ( $t_s$ ), taxa de cruzamento

entre indivíduos aparentados ( $t_m - t_s$ ), frequências alélicas dos óvulos e do pólen ( $o$  e  $p$ ), correlação de autofecundação ( $r_s$ ), correlação multiloco de paternidade ( $r_{p(m)}$ ), correlação de paternidade uniloco ( $r_{p(s)}$ ) e diferença  $r_{p(s)} - r_{p(m)}$ . O número efetivo de árvores polinizadoras foi estimado por,  $N_{ep} = 1/r_{p(m)}$  (RITLAND, 1989). Os genótipos maternos foram inferidos a partir da estimativa do genótipo materno mais provável, utilizando o método de Brown e Allard (1970), alterado por Ritland (2002). O erro padrão da média dos parâmetros foi estimado a partir de 500 reamostragens *bootstrap*. O teste de cruzamentos aleatórios foi realizado pelo teste de homogeneidade das frequências alélicas dos óvulos e do pólen, comparando as estimativas do intervalo de confiança do erro das frequências alélicas dos óvulos e do pólen, a 95% de probabilidade.

O coeficiente de coancestria dentro de progênies de polinização aberta foi estimado da correlação de parentesco entre plantas dentro de progênies ( $r_{xy}$ ), com base em Ritland (1989):  $\hat{r} = 0,25(1 + \hat{F}_m)[4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{t}\hat{s}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_{p(m)})]$ , em que,  $s$  e a taxa de autofecundação. Os outros parâmetros foram previamente definidos. Como em espécies diplóides,  $\hat{r} = 2\Theta$  (LYNCH; WALSH, 1998), tem-se que,  $\hat{\Theta} = \hat{r}/2\Theta$ . Também foi estimado o índice de fixação médio nas progênies ( $F_p$ ) com base no estimador proposto por Weir (1996),

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

Para verificar se o valor médio de  $F$  era diferente de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade por reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 reamostragens sobre os locos, utilizando-se o programa GDA (LEWIS; ZAYKIN, 1999). A endogamia nas progênies é composta por dois componentes: um devido as autofecundações ( $F_s = 0,5s(1 + F_m)$ ) e um devido aos cruzamentos entre parentes ( $F_{cp} = (1-s)\theta_p$ ), de forma que,  $F_{cp} = F_p - F_s$  (SEBBENN, 2006). Utilizando-se estas expressões, estimou-se a contribuição da autofecundação e a taxa de cruzamento entre parentes para a endogamia total das progênies ( $F_p$ ).

Adicionalmente, estimou-se o coeficiente de endogamia em equilíbrio de Wright ( $F_e$ ) para as progênies, a partir da estimativa da taxa de cruzamento multiloco:

$$\hat{F}_e = \frac{1 - \hat{t}_m}{1 + \hat{t}_m}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Frequências alélicas do pólen e dos óvulos

A comparação das frequências alélicas dos óvulos e do pólen revelaram diferenças genéticas em vários alelos em todas as populações avaliadas (Tabela 1). Na população de Presidente Prudente foram detectadas diferenças significativas entre o pólen e os óvulos em 10 dos 18 alelos detectados para os sete locos utilizados; na população Assis Sul em 13 dos 16 alelos, na Assis Leste em 14 dos 16 alelos e na Assis Oeste em 10 dos 17 alelos detectados. Esta alta heterogeneidade nas frequências alélicas do pólen e dos óvulos sugere a ocorrência de desvios de cruzamentos aleatórios, possivelmente devido a autofecundações, cruzamentos entre plantas aparentadas e cruzamentos correlacionados.

As diferenças significativas nas frequências alélicas do pólen e dos óvulos foram detectadas em mais de 50 % dos locos avaliados nas quatro populações de *P. dubium*, indicando fortes desvios de cruzamentos aleatórios e que as frequências

alélicas das árvores matrizes não representam o conjunto de pólen local. Desvios de cruzamentos aleatórios sugerem que o pólen que fecundou as diferentes árvores matrizes não foi homogêneo e diferenças nas taxa de cruzamento individual entre as árvores matrizes (MURAWSKI et al., 1990). A causa dos desvios pode ser atribuída a diversos fatores como, por exemplo, o comportamento dos insetos polinizadores, visitando sistematicamente flores da mesma árvore e de árvores vizinhas, gerando autofecundações e cruzamentos correlacionados e, em alguns casos, cruzamentos entre indivíduos aparentados. Autofecundações, cruzamentos correlacionados e endogâmicos aumentam a homogeneidade nas frequências alélicas do pólen que fecundou cada árvore materna e, conseqüentemente, geram diferenças nas frequências do pólen que fecundou diferentes árvores matrizes. Outras causas para as diferenças observadas entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos podem ser atribuídas a diferenças na função masculina e feminina das plantas, migração de pólen de fora da população, seleção entre o tempo de polinização e amostragem das pro-

**Tabela 1.** Estimativa das frequências alélicas do pólen e dos óvulos e do intervalo de confiança do erro das frequências alélicas a 95% de probabilidade em *P. dubium*.

**Table 1.** Estimate of allelic frequencies of pollen and ovule pools and confidence interval of allelic frequencies in *P.*

Loco	Presidente Prudente		Assis Sul		Assis Leste		Assis Oeste		
	Pólen	Óvulo	Pólen	Óvulo	Pólen	Óvulo	Pólen	Óvulo	
Est-2	1	0,904 (0,009)	0,955 (0,008)	0,894 (0,013)	0,923 (0,015)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)
	2	0,096 (0,009)	0,045 (0,009)	0,106 (0,013)	0,077 (0,015)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)
Est-3	1	0,519 (0,020)	0,455 (0,021)	0,000 (0,000)	0,019 (0,007)	0,000 (0,000)	0,056 (0,026)	0,000 (0,000)	0,038 (0,018)
	2	0,481 (0,020)	0,545 (0,021)	0,447 (0,027)	0,423 (0,030)	0,783 (0,036)	0,417 (0,037)	0,841 (0,024)	0,538 (0,032)
	3	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,553 (0,027)	0,558 (0,030)	0,217 (0,036)	0,528 (0,039)	0,159 (0,024)	0,423 (0,032)
ldh-1	1	0,072 (0,007)	0,030 (0,008)	0,028 (0,008)	0,096 (0,015)	0,020 (0,016)	0,056 (0,018)	0,014 (0,010)	0,038 (0,012)
	2	0,902 (0,009)	0,955 (0,009)	0,896 (0,014)	0,885 (0,016)	0,960 (0,019)	0,917 (0,020)	0,972 (0,012)	0,942 (0,015)
	3	0,027 (0,006)	0,015 (0,005)	0,076 (0,001)	0,019 (0,007)	0,020 (0,012)	0,028 (0,013)	0,014 (0,008)	0,019 (0,009)
6pg-1	1	0,744 (0,025)	0,682 (0,030)	0,830 (0,030)	0,788 (0,025)	0,871 (0,022)	0,694 (0,044)	0,846 (0,020)	0,654 (0,034)
	2	0,226 (0,024)	0,212 (0,025)	0,170 (0,030)	0,212 (0,25)	0,129 (0,022)	0,306 (0,044)	0,154 (0,020)	0,346 (0,034)
	3	0,031 (0,008)	0,106 (0,017)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)
Ugp-2	1	0,007 (0,002)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,058 (0,012)	0,057 (0,022)	0,056 (0,026)	0,042 (0,016)	0,038 (0,018)
	2	0,227 (0,016)	0,258 (0,024)	0,057 (0,009)	0,115 (0,017)	0,629 (0,038)	0,389 (0,039)	0,672 (0,036)	0,577 (0,041)
	3	0,766 (0,016)	0,742 (0,024)	0,943 (0,009)	0,827 (0,021)	0,314 (0,031)	0,556 (0,041)	0,286 (0,031)	0,385 (0,040)
Aco-1	1	0,102 (0,001)	0,076 (0,012)	0,294 (0,022)	0,000 (0,000)	0,198 (0,029)	0,028 (0,012)	0,170 (0,027)	0,019 (0,008)
	2	0,898 (0,010)	0,924 (0,012)	0,682 (0,020)	1,000 (0,000)	0,783 (0,029)	0,972 (0,012)	0,802 (0,029)	0,962 (0,012)
	3	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,024 (0,007)	0,000 (0,000)	0,019 (0,008)	0,000 (0,000)	0,028 (0,013)	0,019 (0,010)
Pgm-1	1	0,033 (0,005)	0,015 (0,005)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)
	2	0,759 (0,018)	0,667 (0,019)	0,878 (0,015)	0,923 (0,014)	0,546 (0,067)	0,806 (0,039)	0,467 (0,053)	0,769 (0,030)
	3	0,208 (0,018)	0,318 (0,020)	0,122 (0,015)	0,077 (0,014)	0,454 (0,067)	0,194 (0,039)	0,533 (0,053)	0,231 (0,030)

( ) Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

gênes, baixo tamanho amostral no número de plantas maternas (19 a 33 árvores maternas por população) representando cada população (LEE et al., 2000) e assincronismo no florescimento. Ainda, outra causa pode estar associada ao fato de que a amostragem dentro das populações foi espacialmente ampla, incluindo várias subpopulações. Se as subpopulações diferirem no conjunto de pólen local, então, inevitavelmente a frequência do pólen será heterogênea entre as árvores amostradas em diferentes subpopulações.

### Taxa de cruzamento

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) foi significativamente menor do que a unidade (1.0) em todas as populações, variando de 0,924 na população Presidente Prudente a 0,557 na população Assis Oeste (Tabela 2).

As estimativas da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) indicaram que a espécie é de sistema misto de reprodução, predominantemente de cruzamento, mas pratica certa proporção de autofecundação,  $\hat{s}=1-\hat{t}_m$  (Tabela 2). A alta variação detectada na taxa de cruzamento entre as populações de *P. dubium* deve-se a heterogeneidade no conjunto de pólen, as diferenças na vizinhança reprodutiva ou na densidade e tamanho das populações. Provavelmente, todos estes fatores contribuíram para os resultados observados. As populações estudadas de *P. dubium* encontram-se localizadas em pequenos fragmentos de diferentes tamanhos e espacialmente isolados entre si. Desta forma, os cruzamentos provavelmente ocorrem predominantemente dentro dos fragmentos e a heterogeneidade nas

frequências alélicas entre populações é inevitável. Outra causa da alta variação detectada na taxa de cruzamento entre as populações pode ser o comportamento ou a densidade dos insetos polinizadores (abelhas e outros pequenos insetos, CARVALHO, 1994), que podem variar entre as populações gerando diferenças na taxa de cruzamento populacional.

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) detectada na população Assis Oeste (0,557) encontra-se entre as mais baixas taxas descritas em espécies arbóreas tropicais. Murawski e Hamrick (1991) relataram a mais baixa taxa de cruzamento já detectada em espécie arbórea tropical, que foi de 0,213 em uma população natural de *Cavanillesia platanifolia* na Ilha de Barro Colorado, Panamá. Schmidt-Adam et al. (2000) também relataram baixa taxa de cruzamento em populações de *Metrosideros excelsa* (variação de 0,220 a 0,530), uma espécie arbórea endêmica das florestas tropicais da Nova Zelândia. Contudo, em geral, a taxa de cruzamento multiloco estimada em espécies tropicais costuma ser alta, com média de 0,880 (SEBBENN, 2006). Por exemplo, em *Bertolletia excelsa* (O'MALLEY et al., 1988) a taxa de cruzamento multiloco foi de 0,849; em *Ceiba pentandra* (MURAWSKI; HAMRICK, 1992) foi de 0,690; em *Cordia alliodora* (BOSHIER et al., 1995) variou de 0,600 a 1,180; em *Pterocarpus macrocarpus* (LIENGSI et al., 1998) variou de 0,719 a 0,959; em *Tachigali versicolor* (LOVELESS et al., 1998) foi de 0,998; em *Shorea leprosula* (LEE et al., 2000) foi de 0,837 e em *Cariniana legalis* (SEBBENN et al., 2000) variou de 0,901 a 0,990.

**Tabela 2.** Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em populações de *P. dubium*  
**Table 2.** Estimate of mating system parameters in *P. dubium* populations

Parâmetros	Presidente Prudente	Assis Sul	Assis Leste	Assis Oeste
Número de progênes	33	26	19	27
Taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ )	0,924 (0,002)	0,629 (0,034)	0,585 (0,035)	0,557 (0,034)
Taxa de cruzamento uniloco ( $t_s$ )	0,832 (0,010)	0,530 (0,033)	0,474 (0,032)	0,465 (0,031)
Taxa de cruzamento entre parentes ( $t_m - t_s$ )	0,092 (0,020)	0,098 (0,012)	0,111 (0,010)	0,092 (0,010)
Correlação de autofecundação ( $r_s$ )	0,150 (0,020)	0,381 (0,049)	0,193 (0,055)	0,184 (0,051)
Correlação multiloco de paternidade ( $r_{p(m)}$ )	0,001 (0,002)	0,017 (0,004)	0,123 (0,032)	0,118 (0,030)
Correlação uniloco de paternidade ( $r_{p(s)}$ )	0,046 (0,002)	0,074 (0,004)	0,108 (0,006)	0,108 (0,005)
Diferença $r_{p(s)} - r_{p(m)}$	-0,045 (0,002)	0,057 (0,005)	0,015 (0,028)	0,01 (0,027)
No médio de árvores doadoras de pólen ( $N_{ep}$ )	21,7	13,5	9,2	9,2
Índice de fixação nas árvores adultas ( $F_m$ )	0,009 (0,002)	0,055 (0,023)	0,285 (0,045)	0,247 (0,046)
Índice de fixação nas progênes ( $F_p$ )	0,127**	0,251**	0,364**	0,329**
Índice de fixação em EEW nas progênes ( $F_e$ )	0,039	0,228	0,262	0,284
Endogamia por autofecundação ( $F_s$ )	0,038	0,196	0,267	0,276
Endogamia por cruzamento entre parentes ( $F_{cp}$ )	0,089	0,055	0,097	0,053
Coancestria dentro de progênes ( $\Theta$ )	0,147	0,261	0,337	0,338
Tamanho efetivo de variância ( $N_e$ )	3,39	1,92	1,48	1,48

( ) 1,96 x Erro padrão.

\*\*P<0,01.

### Cruzamentos entre indivíduos aparentados

A taxa de cruzamento uniloco ( $t_s$ ) foi significativamente menor do que a taxa de cruzamento multiloco em todas as populações. As diferenças entre as taxas de cruzamento multiloco e uniloco ( $t_m - t_s$ ) foram igualmente significativa em todas as populações, variando de 0,092 (Presidente Prudente e Assis Oeste) a 0,111 (Assis Leste), sugerindo a ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados nas populações. A causa destes prováveis cruzamentos entre indivíduos aparentados pode estar associada à existência de estruturação genética espacial intrapopulacional, de forma que indivíduos próximos podem ser provavelmente aparentados entre si, devido a dispersão de sementes próximas a árvore matriz. A espécie tem suas sementes dispersas por autocoria e anemocoria e estas podem ser encontradas no banco de sementes (CARVALHO, 1994), o que pode explicar a existência de estrutura genética espacial nas populações. A consequência do cruzamento entre parentes é a geração de endogamia na descendência, a qual será igual ao coeficiente de coancestria existente entre os parentais cruzados (LINDGREN et al., 1996). Herlihy e Eckert (2004) também encontraram altas taxas de cruzamentos entre parentes em pequenas populações de *Aquilegia canadensis*. Os autores atribuíram estes resultados ao pequeno tamanho das populações.

Outra medida que indica a ocorrência de cruzamentos entre parentes é a diferença entre a correlação de paternidade uniloco e a correlação de paternidade multiloco ( $r_{p(s)} - r_{p(m)}$ ). Segundo Ritland (2002), diferenças negativas entre estes dois parâmetros sugerem que os genitores paternos eram parentes entre si. Diferenças negativas entre  $r_{p(s)} - r_{p(m)}$  foram detectadas nas populações Presidente Prudente e Assis Sul, reforçando a hipótese de estruturação nas populações.

### Cruzamentos correlacionados

A correlação de autofecundação ( $r_s$ ) foi significativamente maior do que zero, variando entre populações de 0,150 a 0,381, indicando a existência de variações na taxa de cruzamento individual entre árvores dentro das populações (Tabela 2). A estimativa da correlação multiloco de paternidade ( $r_{p(m)}$ ) foi significativamente maior do que zero, indicando que ocorreram cruzamentos correlacionados entre indivíduos não aparentados nas populações Assis Sul, Leste e Oeste e que parte das progênies dessas popu-

lações são irmãos-completos. A estimativa da correlação uniloco de paternidade ( $r_{p(s)}$ ) foi significativamente maior do que zero, variando de 0,046 (Presidente Prudente) a 0,108 (Assis Leste e Oeste). Nas populações Presidente Prudente e Assis Sul as diferenças entre as estimativas da correlação de paternidade uniloco e multiloco ( $r_{p(s)} - r_{p(m)}$ ) foram negativas e significativamente menores do que zero, indicando que além de terem ocorrido cruzamentos correlacionados, parte das árvores doadoras de pólen eram parentes entre si. A estimativa do número efetivo de árvores polinizadoras variou de aproximadamente 10 a 22 árvores.

A correlação de autofecundação dentro de progênies ( $r_s$ ) é uma medida de parentesco entre progênies devido a variação na taxa de autofecundação entre árvores maternas (SUN; RITLAND, 1998). As estimativas da correlação  $r_s$  em *P. dubium* indicaram a existência de variações na taxa de autofecundação (ou de cruzamento) entre árvores dentro das populações. Variações na taxa de autofecundação entre árvores implicam que progênies de diferentes árvores possuam diferentes níveis de coancestria e endogamia.

A correlação de paternidade sugere que pequena parte das progênies são irmãos-completos. Assim, progênies de polinização aberta de *P. dubium* são compostas por misturas de meios-irmãos, irmãos-completos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e de cruzamento. Cruzamentos correlacionados implicam que o número de árvores contribuindo para efetiva polinização pode ser pequeno. Em concordância a estimativa do número médio provável de polinizadores variou de 10 a 22. A causa dos cruzamentos correlacionados em *P. dubium* provavelmente está associada ao comportamento dos polinizadores visitando árvores próximas de forma sistemática, que por sua vez, pode estar associada à baixa densidade de indivíduos por área nas populações da espécie, o que dificultaria a distribuição aleatória do pólen na população. Outra causa poderia ser a ocorrência de assincronismo no florescimento, em que, apenas árvores que estivessem em mesma fase de maturidade reprodutiva participariam do processo de recombinação. As consequências dos cruzamentos correlacionados são: aumento da coancestria dentro de progênies, redução no tamanho efetivo de variância e, conseqüentemente, levando a necessidade de maiores tamanhos amostrais para representar a variabilidade genética de po-

pulações de *P. dubium*, para uso em programas de melhoramento e conservação genética. Estudos com diversas espécies arbóreas tropicais vêm também detectando misturas de diferentes tipos de parentescos dentro progênies de polinização aberta, como por exemplo, o observado em *Cariniana legalis* (SEBBENN et al., 2000), *Esenbeckia leiocarpa* (SEOANE et al., 2001), *Chorisia speciosa* (SOUZA et al., 2002) e *Theobroma grandiflorum* (ALVES et al., 2003), entre outros.

### Índices de fixação

O índice de fixação (Tabela 2) estimado das árvores maternas ( $F_m$ ) foi positivo, variando de baixo (0,009) a alto (0,285) e foi significativamente diferente de zero nas populações Assis Sul, Leste e Oeste, a julgar pelo intervalo de confiança do erro a 95% de probabilidade (1,96 x erro padrão). O índice de fixação das progênies ( $F_p$ ) foi igualmente positivo e variou entre populações de 0,127 (Presidente Prudente) a 0,364 (Assis Leste), sendo significativamente diferente de zero em todos os casos. Ainda, comparando o  $F_m$  com o  $F_p$ , verifica-se que o  $F_p$  foi sempre maior, o que sugere a presença de seleção natural, eliminando indivíduos endogâmicos entre a fase de plântulas e a fase adulta.

As estimativas do índice de fixação nas árvores maternas ( $F_m$ ) e nas suas progênies ( $F_p$ ) foram positivas e estatisticamente diferentes de zero (Tabela 2) em todas as populações, embora na população parental de Presidente Prudente e Assis Sul, os valores sejam próximos a zero. Em todos os casos os valores do índice de fixação foram relativamente maiores nas progênies em relação aos estimados para as árvores matrizes. Isto sugere a ocorrência de seleção contra homozigotos entre a fase juvenil e a adulta, apesar das isoenzimas serem tidas como marcadores neutros, portanto, não influenciáveis por fatores evolutivos determinísticos como seleção natural. Em concordância, inúmeros outros estudos realizados em espécies arbóreas, utilizando marcadores isoenzimáticos têm detectado indícios de seleção contra homozigotos entre a fase de plântulas e a fase adulta (BOYLE; MOERGENTERN, 1986; SAMPSON et al., 1989; KENNINGTON; JAMES, 1997; LEE et al., 2000; MILLAR et al., 2000; SEBBENN et al., 2000).

As autofecundações e os cruzamentos entre árvores parentes foram refletidos em excesso de homozigotos nas progênies. O índice de fixação foi positivo e significativo nas progênies de todas as populações amostradas, indicando endo-

gamia, como já comentado. Esta endogamia é composta por dois componentes: um devido as autofecundações ( $F_s = 0,5s(1 + F_m)$ ) e um devido aos cruzamentos entre parentes ( $F_{cp} = F_p - F_s$ ) (SEBBENN, 2006). Nossos resultados mostram que a maior parte da endogamia observada nas progênies ocorreu devido as autofecundações (Tabela 2), com valores variando entre populações de 0,038 a 0,276. Um resultado semelhante é observado comparando o índice de fixação estimado sem assumir o equilíbrio de endogamia ( $F_p$ ) e assumindo o equilíbrio de endogamia ( $F'_p$ ). Assumindo o equilíbrio de endogamia de Wright e estimando o coeficiente de endogamia nas progênies ( $F'_p$ ), a partir da taxa de cruzamento multiloco, verifica-se que esta poderia ter gerado endogamia variando de 0,039 na população Presidente Prudente a 0,284 na população Assis Oeste. Portanto, tal resultado sugere menos endogamia do que foi detectado nas progênies a partir da estimativa do índice de fixação sem assumir o equilíbrio de endogamia de Wright (variação de 0,127 a 0,364). O restante da endogamia nas progênies pode ser atribuído aos cruzamentos entre indivíduos aparentados.

### Consequências para o melhoramento e a conservação genética

A estimativa do coeficiente médio de coancestria ( $\Theta$ , Tabela 2) dentro de progênies variou de 0,147 a 0,338, sugerindo que as progênies não são meios-irmãos e existe mistura de outros tipos de parentescos dentro das progênies. A estimativa do tamanho efetivo de variância ( $N_e$ ) médio dentro de progênies variou de baixo (0,148) a alto (0,339), confirmando essas possíveis misturas de parentescos.

Com o isolamento das populações devido a fragmentação florestal, o risco de perder a diversidade genética é elevado (SORK; SMOUSE, 2006). Pesquisas recentes (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007; AGUILAR et al., 2008; ECKERT et al., 2008; SEBBENN et al., 2011; FERES et al., 2012) descrevem uma redução significativa na diversidade genética em populações pequenas e isoladas. No entanto, a longevidade das árvores e dispersão eficaz do pólen e das sementes podem aumentar sua resistência ao efeito negativo da fragmentação florestal (HAMRICK, 2004; JUMP; PENUELAS, 2006). Kramer et al. (2008) afirmam que para florestas, o impacto real da fragmentação na estrutura genética depende de uma série de fatores ecológicos, incluindo as características dos vetores de dispersão de pólen e sementes.

Os resultados da análise do sistema de reprodução evidenciaram fortes desvios de cruzamentos aleatórios nas populações avaliadas de *P. dubium*. Isto tem fortes implicações em programas de melhoramento, conservação genética e programas de reflorestamentos ambientais. Para fins de melhoramento genético deve-se considerar que a covariância genética entre plantas dentro de progênies corresponde mais de 1/4 (0,25) de variância genética aditiva. Portanto, para estudos da herança de caracteres quantitativos, principalmente para estimativas de componentes de variância, dos valores genéticos e dos ganhos na seleção em populações de *P. dubium* será necessária a adoção de modelos biométricos específicos. A correlação de parentesco ( $r$ ) entre plantas dentro de progênies, em espécies diplóides, corresponde ao dobro do coeficiente de coancestria ( $\Theta$ ) entre plantas dentro de progênies ( $\hat{r}=2\Theta$ ), de forma que a estimativa covariância entre plantas dentro de progênies de polinização aberta em *P. dubium* variou de 0,294 (Presidente Prudente) a 0,676 (Assis Oeste) de variância genética aditiva. Portanto, a correlação de parentesco foi 15% a 63% maior do que a esperada em uma população idealizada (tamanho infinito, sem seleção, mutação e migração) e panmítica ( $r = 0,25$ ). Dessa forma, assumir que progênies de polinização aberta de *P. dubium* são meios-irmãos gera superestimativas na variância genética aditiva, herdabilidades, valores genéticos e ganhos na seleção.

Em termos de conservação genética e coleta de sementes para recuperação ambiental, os resultados observados indicam a necessidade de coleta de maiores tamanhos amostrais do que seriam retidos caso as populações fossem perfeitamente panmíticas. O número de árvores matrizes ( $m$ ) para a coleta de sementes pode ser determinado da relação entre o tamanho efetivo alvo da conservação e o tamanho efetivo de variância ( $N_e$ ) de uma simples progênie (SEBBENN, 2003):

$$\hat{m} = N_e \left[ 2\Theta \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{n} \right],$$

em que,  $N_e$  é o tamanho efetivo que objetiva-se reter para a conservação,  $\Theta$  é o coeficiente de coancestria e  $\hat{F}$  é o coeficiente de endogamia nas progênies, e  $n$  é o número médio de sementes ou plântulas amostradas ou retidas por progênie. Assim, a título de demonstração, assumindo que serão coletadas mesmo número

de sementes por progênie ( $n= 100$ ), que a coancestria média dentro das progênies é a mesmo, que o alvo da conservação é o tamanho efetivo de 50 e substituindo os demais parâmetros apresentados na Tabela 2 na referida expressão, determina-se que seriam necessárias sementes de 15 (Presidente Prudente) a 34 árvores (Assis Oeste), para reter o tamanho efetivo alvo (50).

## CONCLUSÃO

Os resultados do sistema de reprodução nas populações de *P. dubium* indicam que os cruzamentos não ocorrem de forma aleatória; que a espécie não é auto-incompatível, mas sim, aparentemente, trata-se de uma espécie tipicamente de sistema misto de reprodução, combinando cruzamentos com autofecundações; que as populações encontram-se geneticamente estruturadas, promovendo altas taxas de cruzamentos entre indivíduos parentes e; que existe endogamia tanto na geração parental como em suas progênies, embora existam fortes indícios de seleção natural contra indivíduos endogâmicos entre a fase juvenil e a fase adulta.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de Pós-doutorado para o primeiro autor e pelo financiamento do projeto. AMS agradece ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq) pela concessão de bolsa de produtividade em pesquisa. Agradecem, também, M. Sass e Professor Nienhuis do Department of Horticulture, UW-Madison, pelo auxílio nos trabalhos de laboratório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 17, n. 204, p. 5177-5188, 2008.
- ALVES, R. M.; ARTERO, A. S.; SEBBENN, A; M.; FIGUEIRA, A. Mating system in natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Shumm. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 79, n. 2, p. 20-31. 2003.



- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, Edinburgh, v. 99, p. 580-591, 2007.
- BOSHIER, D. H.; CHASE, M. R.; BAWA, K. S. Population genetic of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a Neotropical tree. 3. Gene flow, neighborhood and population substructure. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 4, p. 484-490, 1995.
- BOYLE, T. J. B.; MORGENSTERN, E. K. Estimation of outcrossing rates in six populations of Black Spruce in central New Brunswick. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 35, n. 2-3, p. 102-106, 1986.
- BROWN, A. D. H.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphism. **Genetics**, Austin, v. 66, n. 1, p. 113-145, 1970.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: Recomendações Silviculturais, Potencialidades e Uso de Madeira**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1994. 1035 p.
- CHELIAK, W. M.; PITTEL, J. A. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. **Information Report Pi-X**, Chalk River, v. 42, n. 1, p. 1-49, 1984.
- CLAYTON, J.; TRETIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **Journal Fisheries Research Board Canadian**, Toronto, v. 29, n. 8, p. 1169-1172, 1972.
- DAYANANDAN, S.; DOLE, J.; BAWA, K.; KESSELI, R. Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, n. 10, p. 1585-1592, 1999.
- ECKERT, C. G.; SAMIS, K. E.; LOUGHEED, S. C. Genetic variation across species geographical ranges: the central marginal hypothesis and beyond. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 1170-1188, 2008.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Panel of experts on forest gene resources**. Roma: FAO, 1996, 64 p.
- FERES, J.M.; SEBBENN, A. M.; GUIDUGLI, M. C.; MESTRINER, M. A.; MORAES, M. L. T.; ALZATE-MARIN, A. L. Mating system parameters at hierarchical levels of fruits, individuals and populations in the Brazilian insect-pollinated tropical tree, *Tabebuia roseo-alba* (Bignoniaceae). **Conservation Genetics**, Arlington, v. 13, n.2, p. 393-405, 2012.
- HAMRICK, J. L. Response of forest tree to global environmental changes. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 2, p. 323-335, 2004.
- HERLIHY, C. R.; ECKERT, C. G. Experimental dissection of inbreeding and its adaptive significance in a flowering plant, *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). **Evolution**, Lancaster, v. 58, p. 2693-2703, 2004.
- JUMP, A. S.; PENUELAS, J. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. **Proceedings National Academy of Science USA**, Boston, v. 103, n. 21, p. 8096-8100, 2006.
- KENNINGTON, W. J.; JAMES, S. H. The effect of small population size on the mating system of a rare mallee, *Eucalyptus argutifolia* (Myrtaceae). **Heredity**, Edinburgh, v. 78, n. 3, p. 252-260, 1997.
- KRAMER, A. T.; ISON, J. L.; ASHLEY, M. V.; HOWE, H. F. The paradox of forest fragmentation genetics. **Conservation Biology**, Boston, v. 22, n. 4, p. 878-885, 2008.
- LEE, S.W.; WICKNESWARI, R.; MAHANI, M. C.; ZAKRI, A. H. Mating system parameters in a tropical tree species *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian lowland dipterocarp forest. **Biotropica**, Lawrence, v. 32, n. 4, p. 693-702, 2000.
- LEMES, M. R.; GRIBEL, R.; PROCTOR, J.; GRATTAPAGLIA, 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**, Oxford, v. 12, p. 2875-2883, 2003.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **GDA – Genetic data analysis: version 1.0 (d12)** for Windows. Albuquerque: The University of New Mexico. 1999. 39 p.

- LIENGSIRI, C.; BOYLE, T. J. B.; YEH, F. C. Mating system in *Pterocarpus Macrocarpus* Kurz. in Thailand. **Journal of Heredity**, London, v. 89, n. 3, p. 216-221, 1998.
- LINDGREN, D.; GEA, L.; JEFFERSON, P. Loss of genetic diversity by status number. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, n. 1, p. 52-59, 1996.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L.; FOSTER, R. B. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor* a monocarpic neotropical tree. **Heredity**, Edinburgh, v. 35, p. 134-143, 1998.
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 980 p.
- MILLAR, M.A.; BYRNE, M; COATES, D. J.; STUKELY, M. J. C.; MCCOMB, J. A. Mating system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 48, n. 4, p. 475-479, 2000.
- MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Pollen dispersal between isolated trees in the Brazilian Savannah: A case study of the Neotropical tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Malden, v.43, n. 2, p.192-199, 2011.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Edinburgh, v. 67, p. 167-174, 1991.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. **Journal of Heredity**, London, v. 83, n. 6, p. 401-404, 1992.
- MURAWSKI, D. I.; HAMRICK, J. L.; HUBBELL, S. P.; FOSTER, R. B. Mating system of two Bombacaceous trees of a Neotropical moist forest. **Oecologia**, Berlin, v. 82, n. 4, p. 501-506, 1990.
- O'MALLEY, D. M.; BAWA, K. S. Mating system of a tropical rain forest tree species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 74, n. 8, p. 1143-1149, 1987.
- OOSTERMEIJER, J. G. B.; LUIJTEN, S. H.; DEN NIJS, J. C. M. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. **Biology Conservation**, Boston, v. 113, p. 389-398, 2003.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989.
- RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity**, Edinburgh, v. 88, p. 221-228, 2002.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, Edinburgh, v. 47, p. 35-52, 1981.
- SAMPSON, J.F.; HOPPER, S. D.; JAMES, S. H. The mating system and population genetic structure in a bird-pollinated malle, *Eucalyptus rhodantha*. **Heredity**, Edinburgh, v. 63, p. 383-393, 1989.
- SCHMIDT-ADAM, G.; YOUNG, A. G.; MURRAY, B. G. Low outcrossing rates and shift in pollinators in New Zealand Pohutukawa (*Matrosideros excelsa*; Myrtaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 9, p. 265-267, 2000.
- 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, n. 2, p. 147-162, 2003.
- SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; ZANATTO, A. C. S. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: Implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 25-40, 2000.
- SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: HIGA, A.R.; SILVA, L. (Org.). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006, p. 93-138.
- SEBBENN, A.M.; CARVALHO, A. C.; FREITAS, M. L.; MORAES, S. M.; GAINO, A. P.; SILVA, J. M.; JOLIVET, C.; MORAES, M. L. Low levels of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, Edinburgh, v. 106, p. 134-145, 2011.

- SEOANE, C.E.C.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y et al. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. *Revista do Instituto Florestal*, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 19-26, 2001.
- SOLTIS, D.E.; HAUFLER, C. H.; DARROW, D. C.; GASTONY, G. J. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *American Fern Journal*, Boston, v. 73, n. 1, p. 9-26, 1983.
- SORK, V. L.; SMOUSE, P. E. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, Cambridge, v. 21, N. 6, p. 821-836, 2006.
- SOUZA, L. M. I.; KAGEYAMA, P.; SEBBENN, A. M.; Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa*. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 113-121, 2003.
- SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 23, n. 5, p. 149-156. 1974.
- STUBER, C. W.; SENIOR, M. L.; CHIN, E. C. L. **Techniques and scooting procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.)**. Raleigh: North Caroline State University, 1988. 87 p.
- SUN, M.; RITLAND, K. Mating system of yellow starthisthe (*Centaurea solstitialis*), a successful colonizer in North America. *Heredity*, Edinburg, v. 80, p. 225-232, 1998.
- WEIR, B. S. **Genetic data analysis II**. Methods for discrete population genetic data. Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.
- YAMADA, M. M.; GURIES, R. P. **A manual for starch gel electrophoresis**: New chocolate lovers edition. Madison: University of Wisconsin, 1989. 22 p.

Recebido em 07/01/2013

Aceito para publicação em 14/05/2013

