

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

“Uso de marcadores microssatélites para estimar parentescos dentro de progênes de polinização aberta de espécies arbóreas dióicas: um estudo de caso de *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão)”

MARCELA APARECIDA DE MORAES

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

“Uso de marcadores microssatélites para estimar parentescos dentro de progênies de polinização aberta de espécies arbóreas dióicas: um estudo de caso de *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão)”

MARCELA APARECIDA DE MORAES

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia - UNESP – Campus de Ilha Solteira, para obtenção do título de Mestre em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

M827u Moraes, Marcela Aparecida de.
Uso de marcadores microssatélites para estimar parentescos dentro de
progênes de polinização aberta de espécies arbóreas díóicas:
um estudo de caso de *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão)
Marcela Aparecida de Moraes. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2012
80 f. : il.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2012
Orientador: Alexandre Magno
Inclui bibliografia
1. Coeficiente de coancestria. 2. Sistema de reprodução. 3. Tamanho efetivo.
4. Coleta de sementes. 5. Programas de melhoramento. 6. Conservação *ex situ*.

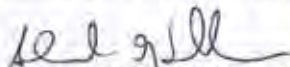
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Uso de marcadores microssatélites para estimar parentescos dentro de progênies de polinização aberta de espécies arbóreas dióicas: um estudo de caso de *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão)

AUTORA: MARCELA APARECIDA DE MORAES

ORIENTADOR: Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:



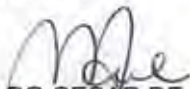
Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN

Instituto Florestal de São Paulo - Ifsp - Secret. do Meio Ambiente / Instituto de Botânica



Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS

Divisão de Dasonomia - Horto Florestal - Instituto Florestal de São Paulo - São Paulo/Sp / Instituto Florestal de São Paulo



Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA

Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 10 de fevereiro de 2012.

Aos meus pais,

Mario e Selma,

pelo exemplo.

As minhas queridas irmãs,

Mayara e Mariana,

DEDICO.

Aos meus avós,

por estarem sempre ao meu lado

em todos os momentos.

Aos meus primos queridos,

pelo apoio e carinho,

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as coisas que foram concedidas à minha vida, tornando possível a conclusão do mestrado;

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela oportunidade da realização deste trabalho. Agradeço pela orientação, paciência, confiança e aos ensinamentos que foram fundamentais para a minha formação acadêmica;

Ao Prof. Dr. Miguel Luiz Menezes Freitas e Prof. Dr. Rinaldo César de Paula pelas críticas e sugestões que só enriqueceram este trabalho;

À Dra. Daniela Silva de Oliveira Canuto e ao Prof. Dr. Pedro César dos Santos pelas sugestões apresentadas no exame de qualificação do mestrado;

Aos docentes e funcionários da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS-UNESP pelos ensinamentos recebidos e amizade;

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS-UNESP pela oportunidade da realização do mestrado;

À FAPESP pela bolsa de estudos concedida, e ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela orientação nos projetos;

Ao Geógrafo MSc. Alexandre Marques Silva por sempre estar comigo na minha vida acadêmica, me ensinando e auxiliando, e pela amizade ;

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP, em especial, Alonso A. da Silva, José Cambuim e Manoel F. R. Bonfim por sempre me ajudarem na condução dos testes de progênies e coleta de dados;

Ao Tio Luiz Torrezan (*in memoriam*) e ao Walter Bichuete por ajudarem na coleta de sementes da população de Aramina-SP;

Aos funcionários da biblioteca da FEIS/UNESP, em especial ao João J. Barbosa, Marta Satiko Suzuki, Sandra Maria Clemente Souza e Cristina Alexandra de Godoy, pelo apoio;

À equipe da Seção de Pós Graduação, especialmente a Márcia, Rafael e Onilda, pelas explicações e eficiência no trabalho realizado;

À Clarice Trindade, secretária do DFTASE, pela amizade, atenção e eficiência nos trabalhos prestados;

Aos meus irmãos (companheiros) do Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura pela ajuda e amizade;

Aos meus queridos amigos Janaína, Maiara, Patrícia, Marcela, Thamyres, Laíza, Michele, Thaisa, Érica, Juliana, Helena, Gilberto, Renan, Walter Júnior, Ricardo Manoel, Renato, Miguel, Christian e Raphael pelos momentos de alegria que me ajudaram a enfrentar as dificuldades desta caminhada, nunca esquecerei vocês porque estarão sempre aqui comigo;

Aos meus primos Alexandre, Aline, Ana Paula, André, Ariel, Bruno, Damiana, Danilo, Douglas, Laerte, Larissa, Leandro, Cristian, Natan e Rodrigo pelos laços de amizade e de amor que nos unem, tornando-nos fortes para enfrentar os obstáculos da vida sempre juntos;

Aos meus tios Adelaide, Ana Angélica, Benedita, Damião, Florisvaldo, Laerte, Marco, Maria de Lourdes, Salatier e Wilma pela confiança e estima por mim;

Aos meus amados avós Egydio (*in memoriam*), Diolinda, Lourdes Maria e Mario pelo amor, carinho e por sempre terem acreditado em mim;

Às minhas queridas irmãs Mayara e Mariana, por estarem sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis, me apoiando e sempre me dando forças para seguir em frente;

Aos meus amados pais pelo exemplo de vida e por serem pessoas de princípios e persistentes naquilo que acreditam sem desistir, e pela ajuda neste trabalho;

Enfim a todos que contribuíram direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

*“Você nunca sabe a força que tem,
até que a sua única alternativa é ser forte”.*

Johnny Depp.

RESUMO

Há muito tempo tem-se o interesse em conhecer o parentesco existente dentro de progênies de polinização aberta de espécies arbóreas, devido às suas implicações na estimativa da variância genética aditiva, tamanho efetivo de variância e determinação do número de árvores matrizes para a coleta de sementes para fins de conservação *ex situ*, melhoramento e recuperação ambiental. O objetivo do presente trabalho foi comparar a estimativa do coeficiente de coancestria dentro de progênies de *Myracrodruon urundeuva* por quatro métodos: *i*) parâmetros do sistema de reprodução, conforme método de Ritland (1989) e utilizando a extensão deste método em casos de cruzamentos entre parentes (SEBBENN, 2006); *ii*) a partir da medida de diferenciação no conjunto de pólen recebido por diferentes árvores matrizes, com base na análise TwoGener (SMOUSE et al., 2001); *iii*) análise de variância de frequências gênicas para estimar componentes de variância e calcular o coeficiente de coancestria a partir da diferenciação genética entre progênies (WEIR; COCKERHAM, 1984); *iv*) o estimador de coancestria de Loiselle et al. (1995) e Ritland (1996) pelo método proposto por Hardy et al. (2004). Para tanto, foram utilizadas progênies de polinização aberta de quatro populações de *M. urundeuva*, analisadas para seis locos microssatélites. Para reduzir fontes de variação, trabalhou-se com um conjunto de dados balanceados, onde todas as progênies tinham 15 plantas e duas populações foram compostas por 12 progênies e duas por 24 progênies. A taxa de cruzamento não foi diferente da unidade nas quatro populações ($t_m = 1,0$) o que era esperado por tratar-se de uma espécie dióica. A correlação de paternidade foi significativamente diferente de zero, variando de 0,167 a 0,265, ou seja, 16% a 26% das progênies são parentes no grau de irmãos-completos. Comparando os quatro métodos de estimação do coeficiente de coancestria, o mais preciso e fácil de estimar foi o método de Ritland (1989). Este método produziu valores dentro da faixa esperada em progênies de polinização aberta (0,125 a 1,0), com valores variando de 0,145 a 0,158. As estimativas obtidas ao nível de progênies foram igualmente dentro da faixa esperada. Em contraste, todos os demais métodos produziram em algumas populações e/ou mesmo dentro de progênies alguns valores que se encontravam abaixo do mínimo esperado em progênies de polinização aberta (0,125), claramente indicando a ocorrência de subestimativas. Tais subestimativas geram erros nos cálculos da correlação de parentesco, tamanho efetivo de variância e número de árvores matrizes para a coleta de sementes. A estimação mais coerente do coeficiente de coancestria foi pelo método de Ritland (1989) pelo fato de que este é uma estimativa

ponderada dos diferentes parentescos dentro de progênies. Em termos práticos, este estudo contribui para programas de melhoramento e conservação genética, pela proposição do coeficiente de parentesco a ser utilizada para estimar a variância genética aditiva em populações de *M. urundeuva*.

Palavras-chave: Coeficiente de coancestria. Sistema de reprodução. Tamanho efetivo. Coleta de sementes. Programas de melhoramento. Conservação *ex situ*.

Use of microsatellite markers to estimate relatedness within open-pollinated progenies of dioicous tree species: a case study of *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão)

ABSTRACT

Know the relatedness within open-pollinated families is a long time interest due the implications which this relatedness have on the estimative of the additive genetic variation, variance effective population size and determination of the number of seed-tree for to collect seeds aiming *ex situ* conservation, tree breeding and environmental restoration. The aim of this work was to compare the estimated of the coancestry coefficient within families of *Myracrodruon urundeuva* by four methods: *i*) mating system parameters, according with Ritland (1989) method and using the extension of this method in cases of crosses between relatives (SEBBENN, 2006); *ii*) from the measured of pollen gene pool differentiation among different seed-trees, with base in TWOGENER analysis (SMOUSE et al., 2001); *iii*) analysis of variance of gene frequencies to estimate variance components and calculate the coefficient of coancestry from the genetic differentiation among families (WEIR; COCKERHAM, 1984); *iv*) the estimator of coancestry from Loisselle et al. (1995) and Ritland (1996) using the method proposed by Hardy et al. (2004). For this purpose, we used open-pollinated progeny of four populations of *M. urundeuva*, previously analyzed for six microsatellite loci. To reduce sources of variation, we worked with a set of balanced data, where all progenies had 15 plants and two populations were composed of two 12 by 24 families and families. The four populations have progeny generated by crossing ($t_m = 1,0$) what was expected for the species is dioecious. The correlation of paternity was significantly different from zero, ranging from 0.167 to 0.265, so 16% to 26% of the progeny were generated by crossing correlated with degree of full-sib. Comparing the four methods of estimating the coefficient of coancestry, the most accurate and easy to estimate was the Ritland (1989) method. This method produces values within the expected ranged in open-pollinated progenies (0.125 to 1.0), with values ranging from 0,145 to 0.158. The estimates obtained at the level of progeny were also within the expected ranted. In contrast, all other methods have produced in some populations and/or families values that were below the minimum expected in open-pollinated progenies (0.125), clearly indicating underestimation. Such underestimates generate errors in the calculation of the coefficient of relatedness, variance effective population size and in the number of seed trees to collect seeds form breeding and conservation plans. The Ritland (1989) method

produces more robust estimates because this is a weighted estimate of the coancestry within families. This study contributed for breeding and conservation programs by proposition of the coefficient of coancestry to be used for to estimate the additive genetic variation in *M. urundeuva* populations.

Keywords: Coefficient of coancestry. Mating system. Effective size. Collect seeds. Breeding programs. *Ex Situ* conservation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)).....	55
Figura 2	Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria (Loissele)).....	56
Figura 3	Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria(Ritland)).....	57
Figura 4	Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria (Loissele)).....	58
Figura 5	Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria (Ritland)).....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características geográficas dos locais e número de progênies amostradas (NP) e utilizadas (NPu) nas análises das populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	27
Tabela 2	Esquema da análise de variância de frequências alélicas no modelo hierárquico balanceado para progênies de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	31
Tabela 3	Diversidade genética e índice de fixação (F) nas árvores matrizes e suas respectivas progênies de quatro populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	35
Tabela 4	Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em quatro populações naturais de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	39
Tabela 5	Estimativa de parâmetros genéticos dentro de progênies a partir da análise Twogener em populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	44
Tabela 6	Estimativa da correlação de paternidade da análise Twogener e do coeficiente de coancestria dentro de progênies em quatro população de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	46
Tabela 7	Estimativas do coeficiente de coancestria dentro de progênies (θ_F) estimada por análise de variância em quatro populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	48
Tabela 8	Média e desvio padrão do coeficiente de coancestria de Loisselle et al. (1995) e Ritland (1996) estimado dentro de progênies de em quatro populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	50
Tabela 9	Resultados das análises de correlações entre os diferentes métodos de estimação do coeficiente de coancestria em quatro populações de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
3	HIPOTESES.....	18
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
4.1	<i>Myracrodruon urundeuva</i> (F.F. & M.F. ALLEMÃO)	19
4.2	Marcadores Moleculares.....	19
4.3	Sistema de Reprodução.....	20
4.4	Coeficiente de Coancestria.....	22
4.5	Diferentes métodos de estimação de parentesco dentro de progênes.....	23
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1	Amostra.....	27
5.2	Análise dos dados.....	28
5.2.1	Análise da diversidade genética e índice de fixação	28
5.2.2	Estimativas do coeficiente de coancestria dentro de progênes por diferentes métodos.....	28
5.2.2.1	Estimativa do coeficiente de coancestria de parâmetros do sistema de reprodução....	28
5.2.2.2	Estimativa do coeficiente de coancestria por análise TwoGener.....	29
5.2.2.3	Estimativa do coeficiente de coancestria por análise de variância de frequência gênicas.....	30
5.2.2.4	Estimativa do coeficiente de coancestria pelo método de Hardy et al. (2004).....	32
5.2.2.5	Estimativas de outros parâmetros dependentes do coeficiente de coancestria.....	33
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
6.1	Descrição da diversidade genética e índice de fixação nas populações.....	34
6.2	Estimativa do coeficiente de coancestria a partir de parâmetros do sistema de reprodução.....	37
6.2.1	Taxa de cruzamento.....	37

6.2.2	Cruzamentos correlacionados.....	40
6.2.3	Coeficiente de coancestria dentro de progênies.....	41
6.3	Estimação da correlação de paternidade e coeficiente de coancestria a partir da análise Twogener.....	43
6.4	Coancestria dentro de progênies, estimada por análise da variância nas frequências gênicas.....	47
6.5	Estimativas do coeficiente de coancestria pelo método de Hardy et al. (2004).....	49
6.6	Comparação entre os métodos de estimativa do coeficiente de coancestria.....	52
6.7	Tamanho efetivo e número de árvores matrizes para a coleta de sementes.....	61
7	CONCLUSÕES.....	63
8	REFERÊNCIAS	64
	ANEXOS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A utilização de progênies de polinização aberta têm sido muito difundida em programas de melhoramento genético florestal, programas de conservação *ex situ* e para fins de recuperação ambiental, devido à facilidade, baixo custo e rapidez de obtenção. Em muitos programas de melhoramento florestal, assume-se que progênies de polinização aberta são originadas de cruzamentos aleatórios entre um infinito número de árvores, resultando em progênies de meios-irmãos. Desta forma, os coeficientes de herdabilidade podem ser estimados, assumindo que covariância genética entre plantas dentro de progênies ($COV_g = 2\theta_{xy}\sigma_A^2$) estima $\frac{1}{4}$ da variância genética aditiva (σ_A^2). Isto só será verdade quando os genitores não forem aparentados entre si, não endogâmicos, não ocorrer autofecundação, não ocorrer sobreposição no conjunto de pólen recebido pelas árvores matrizes que deram origem as progênies e se todas as plantas de uma progênie forem geradas por pólen de diferentes pais (parentesco apenas dentro de progênies), sendo sua relação de parentesco de meios-irmãos ($\theta_{xy}=0,125$). Estas pressuposições dificilmente são satisfeitas na natureza e a covariância genética real entre progênies deve ser maior que $\frac{1}{4}$ (NAMKOONG, 1966; SQUILLACE, 1974; RITLAND, 1989). Os desvios destas pressuposições ou em outros termos, os desvios de cruzamentos aleatórios são causados por misturas de cruzamentos com autofecundação (sistema misto de reprodução), cruzamentos correlacionados, cruzamentos entre indivíduos parentes, populações estruturadas em famílias (parentesco entre árvores matrizes, gerando parentesco entre plantas de diferentes progênies), sobreposição no conjunto do pólen que fertilizou diferentes árvores matrizes (parentesco entre plantas de diferentes progênies devido a mesmos parentais paternos fertilizando diferentes árvores matrizes), e endogamia na geração parental. Portanto, o valor de progênies de polinização aberta para estimar a variância genética aditiva é reduzido devido aos fenômenos citados acima (NAMKOONG, 1966). Esses processos de reprodução fazem com que progênies de polinização aberta sejam compostas por diferentes misturas de parentescos, como: *i*) irmãos de autofecundações; *ii*) meios-irmãos; *iii*) irmãos-completos e; *iv*) irmãos de autofecundação e de cruzamentos (SQUILLACE, 1974; RITLAND, 1989). Assim, a coancestria dentro de progênies será maior do que a esperada em progênies puramente de meios-irmãos ($\Theta=0,125$) e a variância entre progênies vai estimar menos variância genética aditiva. Ressalta-se ainda que conhecer o parentesco entre plantas dentro de progênies é fundamental para a conservação genética e determinação do número de árvores matrizes para a coleta de sementes para recuperação ambiental, visto que quanto

maior o parentesco dentro de progênies, maior será a frequência de alelos idênticos por descendência dentro das progênies e, conseqüentemente, maiores serão os tamanhos amostrais necessários para conservar e recuperar áreas ou, em outros termos, fundar novas populações com tamanho efetivo que garantam um mínimo de potencial evolutivo às populações.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi estimar e comparar quatro métodos de estimativa do coeficiente de coancestria dentro de progênies de polinização aberta em quatro populações da espécie arbórea tropical dióica *Myracrodruon urundeuva*, utilizando locos microssatélites. Os quatro métodos de estimação do coeficiente de coancestria dentro de progênies foram: *i*) parâmetros do sistema de reprodução, conforme método de Ritland (1989) e utilizando a extensão deste método em casos de cruzamentos entre parentes (SEBBENN, 2006); *ii*) a partir da medida de diferenciação no conjunto de pólen recebido por diferentes árvores matrizes, com base na análise TwoGener (SMOUSE et al., 2001); *iii*) análise de variância de frequências gênicas para estimar componentes de variância e calcular o coeficiente de coancestria a partir da diferenciação genética entre progênies (WEIR; COCKERHAM, 1984); *iv*) o estimador de coancestria de Loiselle et al. (1995) e Ritland (1996) pelo método proposto por Hardy et al. (2004). Mais especificamente, pretendeu-se responder as seguintes questões:

1. Existem diferenças entre diferentes métodos de estimação nas estimativas do coeficiente de coancestria dentro de progênies?
2. Qual dos quatro métodos estudados é o mais preciso para se estimar o coeficiente de coancestria dentro de progênies em espécies dióicas?

3 HIPÓTESES

A principal hipótese deste estudo é de que diferentes métodos de estimação do coeficiente de coancestria dentro de progênies produzam diferentes valores devido a diferenças inerentes aos próprios métodos de estimação. Por exemplo, o método de Ritland (1989) estima a coancestria dentro de progênies, com base em parâmetros do sistema de reprodução, como taxa de cruzamento, variação individual na taxa de cruzamento e correlação de paternidade. Em outros termos, em espécies dióicas, em função do processo de reprodução, têm-se diferentes proporções de meios-irmãos e irmãos-completos dentro de progênies e, conseqüentemente, uma específica coancestria dentro de progênies. Já o método de Hardy et al. (2004), desconsidera o processo de reprodução e estima diretamente a coancestria dentro de progênies como uma média do parentesco entre todos os pares de indivíduos existentes dentro de cada progênie. Neste método, se locos altamente polimórficos são utilizados, espera-se que o estimador de coancestria determine com certo grau de precisão o verdadeiro parentesco existente entre plantas dentro de progênies (meios-irmãos e irmãos completos). Por sua vez, o método TwoGener, separa a contribuição gamética materna e paterna das sementes e utilizando análise de variância, determina a diferenciação no conjunto de pólen recebido por diferentes árvores matrizes, o qual corresponde a coancestria dentro de progênies. Esta coancestria por sua vez, permite determinar a taxa de cruzamentos correlacionados e conseqüentemente, calcular a coancestria dentro das progênies. Outro método para estimar o coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies é baseado na análise de variância de frequências gênicas entre progênies (WEIR; COCKERHAM, 1984). Este método permite a estimativa da variância genética entre progênies com base em correções intra-classes (quanto maior a variação genética nas frequências alélicas entre progênies, maior é a coancestria dentro de progênies e vice-versa), de forma que é possível inferir qual é o coeficiente de coancestria dentro de progênies. Em estrutura de progênies, esta estimativa é esperada ser de no mínimo 0,125, que representa a coancestria dentro de progênies de meios-irmãos. Em termos teóricos, este estimador deve acomodar autofecundações, cruzamentos correlacionados e cruzamentos entre parentes, além de endogamia na geração parental.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. ALLEMÃO)

Myracrodruon urundeuva F.F. & M.F. Allemão (aroeira) pertence à família Anacardiaceae, sendo uma espécie arbórea tropical dióica de ampla distribuição no Brasil, ocorrendo também na Argentina, Bolívia e Paraguai (3°30'S, Brasil a 25°S, Argentina). Seu habitat é Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, Cerrado, Cerradão, Caatinga, Chaco Sul-Mato-Grossense e Pantanal Mato-Grossense. Suas flores são unissexuais e polinizadas por insetos, especialmente abelhas e, a dispersão de sementes ocorre pelo vento e por animais, especialmente pássaros. Geralmente o fruto contém apenas uma semente (CARVALHO, 1994).

A madeira de *M. urundeuva* é conhecida pela durabilidade e resistência, decorrentes de características mecânicas e químicas (presença de álcoois, fenóis, etc). As árvores desta espécie possuem reconhecido valor econômico e dentre as diversas aplicações, pode-se citar a utilização da madeira para confecção de esteios, postes moirões, dormentes, mas como também suas flores na apicultura, as folhas maduras na alimentação do gado, do cerne é extraído tanino utilizado em curtume e a casca tem propriedades balsâmicas (CARVALHO, 1994). A árvore também é utilizada como ornamental e para reflorestamentos ambientais (RIZZINI, 1971; SANTIN; LEITÃO FILHO; 1991; LORENZI, 1992; CARVALHO, 1994). A madeira da *M. urundeuva* é registrada no Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) de São Paulo, como “durável”, ou seja, apresenta durabilidade secular. Sua excelente qualidade faz da *Myracrodruon urundeuva* uma raridade em madeira, o que torna cada vez mais rápida sua devastação em todo país (RIBEIRO, 1989). Entretanto, a despeito da ampla ocorrência e utilidade dessa espécie no Brasil, a intensa exploração de florestas ou de espécie de ocorrência natural já extinguiu muitas de suas populações naturais. *Myracrodruon urundeuva* tem-se tornada escassa na região sudeste do Brasil, especialmente no estado de São Paulo, onde não é encontrada em grande número, exceto em pequenas reservas privadas e do governo do estado.

4.2 Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são utilizados para acessar genótipos e monitorar a diversidade e estrutura genética, identificação de indivíduos ou famílias divergentes, construção de mapas genéticos, identificação de locos relacionados aos caracteres

quantitativos (DALE; CHAPARRO, 1997) e estudos do sistema de reprodução e dispersão de pólen e sementes, entre outras utilidades. Correspondem a locos presentes nos cromossomos ou organelas citoplasmáticas, que podem ser expressos (isoenzimas) ou não (DNA genômico). Os marcadores tipo microssatélite (SSR) têm sido amplamente utilizados para estes estudos. Tratam-se de marcadores co-dominantes, que permitem obter melhores informações sobre o genótipo de indivíduos devido a sua replicabilidade e simplicidade técnica.

Em *M. urundeuva* os primeiros estudos com marcadores genéticos envolviam a utilização de isoenzimas (MORAES, 1992), RAPD e sequência de cpDNA (REIS, 1999; REIS; GRATTAPAGLIA, 2004). Porém, outras técnicas moleculares foram sendo propostas, como o marcador dominante AFLP (VOS et al., 1995; FREITAS et al., 2005) e os microssatélites (CAETANO et al., 2005, 2008). Estudos genéticos de *M. urundeuva* utilizando primers SSR são recentes e restritos apenas ao conhecimento da diversidade genética existente entre e dentro populações do Paraguai e da Argentina (CAETANO et al., 2005). No Brasil, Gaino et al. (2010) utilizaram locos microssatélites específicos para a espécie no estudo da diversidade, sistema de reprodução, estrutura genética espacial intrapopulacional e dispersão contemporânea de pólen e sementes de uma população localizada na Estação Ecológica de Paulo Faria, localizada no município de Paulo de Faria-SP.

4.3 Sistema de Reprodução

Para que sejam elaboradas e adotadas medidas de conservação adequadas, é imprescindível o conhecimento sobre o sistema de reprodução das espécies alvo, na localidade que se deseja conservar ou manejar. Considerando populações de plantas, é indispensável que se conheçam, pelo menos, as características básicas da biologia reprodutiva da espécie, como época de floração e frutificação, principais agentes polinizadores e dispersores de sementes e sistema de cruzamento.

O sistema de reprodução refere-se a forma como as populações de uma espécie recombinam seus genes a cada geração para formar a população descendente. O cruzamento entre diferentes flores é definido como alogamia, sendo que, se envolver flores de diferentes plantas, é classificado como xenogamia, e entre diferentes flores das mesmas plantas por geitonogamia. O “cruzamento” entre órgãos masculinos e femininos da mesma flor, por sua vez, é definido como autogamia (FINKELDEY, 2005).

O sistema de reprodução pode apresentar grande variação entre espécies, dentro de populações de uma espécie, entre diferentes eventos reprodutivos, entre plantas de uma

população e entre flores de uma planta devido ao seu controle estar sob influência genética e ambiental. Os níveis de cruzamento dependem das características genéticas das plantas, que possibilitam ou impedem a autofecundação (como estrutura da flor e sistemas de auto-incompatibilidade) e de fatores ecológicos (variações climáticas, causando alterações no comportamento dos polinizadores, ou variação na fase reprodutiva das flores masculinas e femininas). A variação na taxa de cruzamento entre populações de espécies arbóreas tropicais pode decorrer de diferenças entre populações nos níveis de carga genética (depressão endogâmica, causando variação na taxa de cruzamento entre populações), diferenças no histórico de colonização de novos sítios, causando alterações no sistema de reprodução ou efeitos antropogênicos como fragmentação e corte seletivo de árvores, alterando a demografia e o tamanho da população reprodutiva e, conseqüentemente, o seu sistema de reprodução (SEBBENN, 2006).

O uso de marcadores genéticos para o estudo de sistema de reprodução requer a utilização de modelos genéticos para descrever padrões de reprodução, como o modelo misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e modelos de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989), implementados no programa MLTR (RITLAND, 2004). A análise TwoGener também pode ser empregada para a estimar parâmetros do sistema de reprodução (AUSTERLITZ; SMOUSE, 2002; SMOUSE et al., 2001). Estudos do sistema de reprodução podem ser conduzidos para conhecer qual é a taxa de cruzamento, taxa de autofecundação, a proporção dos cruzamentos que ocorrem entre indivíduos parentes (cruzamentos endogâmicos), ou que envolvem os mesmos parentais mais de uma vez (cruzamentos correlacionados), o número de parentais paternos envolvidos na reprodução de uma planta, o tamanho e a área de vizinhança reprodutiva, a divergência do pólen cruzado entre plantas, a distância de dispersão de pólen e as proporções de pólen que vem de fora da população (fluxo gênico). Tais estudos podem ser eficientemente realizados com a utilização de marcadores genéticos, em especial os de herança co-dominante e altamente polimórficos, como os microssatélites, desde que se adote uma amostragem delineada adequadamente para os objetivos do estudo. Por exemplo, em espécies de cruzamento, deve-se coletar sementes em pelo menos 25 árvores por população, não muito distantes entre si (pelo menos 100 m), para não envolver diferentes vizinhanças reprodutivas e violar a pressuposição do modelo misto de reprodução (homogeneidade nas frequências alélicas do pólen cruzado) e genotipar pelo menos 20 sementes por planta permite realizar estes estudos com precisão. As sementes devem ser coletadas de vários frutos, e, preferencialmente, deve-se manter a identidade do fruto de origem de cada semente, para estudos detalhados da correlação de paternidade entre e

dentro de frutos, embora, para isso, sejam desejáveis maiores tamanhos amostrais por planta materna 50 sementes por planta (SEBBENN, 2006).

Pouco foi estudado sobre reprodução de plantas do cerrado. Inicialmente, considerava-se que plantas do cerrado reproduziam-se quase que exclusivamente por propagação vegetativa. Entretanto, a propagação de plantas do cerrado por meio de sementes, em condições naturais, tem-se apresentado viável e muito frequente (MELO et al. 1998). Oliveira (1998) comenta que espécies do Cerrado têm apresentado nível de xenogamia obrigatório tão ou mais elevado que em florestas tropicais.

4.4 Coeficiente de coancestria

Coancestria, parentesco e endogamia são conceitos intimamente relacionados pelo conceito de identidade por descendência dos alelos (SEBBENN; SEOANE, 2005). A coancestria (θ_{xy}) é a probabilidade que dois alelos homólogos, amostrados aleatoriamente de dois indivíduos, x e y , sejam idênticos por descendência, isto é, sejam cópias de um mesmo alelo de um antecessor recente (LYNCH; WALSH, 1998). Em populações de cruzamentos aleatórios, a coancestria equivale à endogamia na descendência ($F = \theta_{xy}$). Essa definição de coancestria inclui o caso em que os dois indivíduos são idênticos, quando se obtém a autocoancestria, (θ_{xx}) que equivale à endogamia na descendência após autofecundações [$F_A = \theta_{xx} = 0,5(1 + F_m)$], em que F_m é o coeficiente de endogamia na mãe]. Assim, a coancestria média de uma população ($\bar{\theta}$) inclui a autocoancestria e a coancestria entre todos os pares de indivíduos da população (LINDGREN et al., 1997). Em contraste, o parentesco mede a proporção de alelos entre dois indivíduos que são idênticos por descendência. Por exemplo, o parentesco entre o indivíduo x e y é a proporção de alelos em y que são idênticos por descendência aos alelos presentes em x ; equivalentemente, esta é a probabilidade de que um alelo aleatório amostrado em y seja idêntico por descendência a dois alelos presente em x . Em espécies diplóides, $r_{xy} = r_{yx}$ e, assim, um alelo aleatório de y tem duas chances de ser idêntico a um alelo em x : este pode ser idêntico a um alelo homólogo de x , ou ao outro. Se x não é endogâmico, essas duas probabilidades são independentes e mutuamente exclusivas e, visto que cada homólogo tem a probabilidade θ_{xy} de ser idêntico por descendência, o parentesco é duas vezes essa probabilidade, $r_{xy} = 2\theta_{xy}$ (SMITH, 1999). A endogamia (F) é a probabilidade de retirar aleatoriamente dois alelos, em um loco, em um indivíduo x e estes

alelos serem idênticos por descendência (LYNCH; WALSH, 1998). A probabilidade de os alelos em x serem idênticos por descendência depende de autocoancestria da mãe, se x é filho de autofecundação, ou da coancestria entre seus parentais (materno e paterno), se x é filho de cruzamento.

4.5 Diferentes métodos de estimação de parentesco dentro de progênes

Vários foram os trabalhos que derivaram expressões para a estimativa da variância genética e covariância entre parentes em espécies de plantas com sistemas mistos de reprodução, podendo-se citar Ghai (1982), Cockerham e Weir (1984), Squilace (1974), Ritland (1989) e Sebbenn (2006). Em espécies arbóreas, o modelo de Cockerham e Weir (1984) tem sido utilizado para estimar o coeficiente de correlação genética aditiva entre indivíduos dentro de progênes (r_{xy}) associada à variância genética aditiva (RESENDE et al., 1995; COSTA et al., 2000). Este modelo estima a covariância genética aditiva ($r_{xy} = 2\theta_{xy}$), assumindo que a reprodução só ocorre por misturas de cruzamentos aleatórios e autofecundações e as progênes constituem misturas apenas de: i) meio-irmãos; ii) irmãos de autofecundação; iii) irmãos de autofecundação e cruzamentos. Como em espécies arbóreas os cruzamentos correlacionados e entre parentes são comuns, especialmente nas espécies polinizadas por animais (MILLAR et al., 2000; SEBBENN et al., 2000; SEOANE et al., 2001; MORAES et al., 2004; CARNEIRO et al., 2007; GUSSON et al., 2006; SEBBENN, 2006; BITTENCOURT; SEBBENN, 2007; MORAES et al., 2007; LACERDA et al., 2008; SILVA et al., 2008; GAINO et al., 2010; MORAES; SEBBENN, 2011), este modelo geralmente é insuficiente para descrever o parentesco existente dentro das progênes. Devido a isso, Ritland (1989) desenvolveu um modelo mais realista para estimar o coeficiente de correlação (ou covariância) genética aditiva dentro das progênes, utilizando uma expressão que acomoda autofecundações (s), endogamia na geração parental (F_p), variações entre plantas na taxa de cruzamento (r_s) e cruzamentos correlacionados (r_p):

$$r_{xy} = 0,25(1 + F_p)[4s + (t^2 + str_s)(1 + r_p)].$$

Neste caso, as progênes de polinização aberta podem conter misturas de: i) meios-irmãos; ii) irmãos-completos; iii) irmãos de autofecundações e; iv) irmãos de cruzamento e autofecundações. Contudo, para se utilizar este modelo é necessário estimar parâmetros do sistema de reprodução (a partir de dados de marcadores genéticos co-dominantes) como taxa de autofecundação ($s = 1 - t$) e de

cruzamento ($t = 1 - s$), correlação de paternidade (r_p), endogamia na geração parental (F_p) e correlação de autofecundação (r_s). Contudo, a única deficiência deste método é não acomodar cruzamentos entre parentes. Tendo isto em vista, Sebbenn (2006) estendeu o estimador de Ritland (1989) para acomodar cruzamentos entre parentes:

$$\begin{aligned} \Theta = & 0,125(1 + F_p)\{4s[(1 - r_s)(s + t_s) + r_s] + [t_s^2(1 - \hat{r}_s) + t_s r_s](1 + r_p)\} + \\ & + 0,25(t_m - t_s)(1 - r_s)[2(1 + F_p + 2\Theta_p)(s + t_s) + t_s(1 + F_p + 6\Theta_p)(1 - r_p)] + \\ & + 0,125[(t_m - t_s)^2(1 - r_s) + (t_m - t_s)r_s][(1 + F_p + 6\Theta_p)(1 - r_p) + (1 + F_p + 2\Theta_p)2r_p], \end{aligned}$$

em que, o termo $t_m - t_s$ refere-se à taxa de cruzamento entre parentes e Θ_p refere-se a coancestria entre os parentais cruzados. Os outros parâmetros foram previamente descritos. Esse estimador é uma expressão geral que serve para qualquer situação, podendo ser utilizado para derivar expressões para os mais diversos casos de reprodução, como, por exemplo, para espécies dióicas. Neste caso, a taxa de cruzamento entre parentes é medida por $1 - t_s$, visto que todas as diferenças entre a unidade (1,0) e as taxas de cruzamento multiloco (t_m) e uniloco (t_s) ocorrem devido ao cruzamento entre parentes. Adicionalmente, como em espécies dióicas todas as plantas tem taxa de cruzamento igual a unidade (1,0), não existe variação na taxa de cruzamento entre plantas, logo a correlação de autofecundação, que mede esta variação individual na taxa de cruzamento entre plantas é zero ($r_s = 0$). Assim, substituindo na expressão anterior $t_m - t_s$ por $1 - t_s$ e r_s por zero, o estimador do coeficiente de coancestria é reduzido para:

$$\begin{aligned} \Theta = & 0,125(1 + F_p)t_s^2(1 + r_p) + 0,25(1 - t_s)[2t_s(1 + F_p + 2\Theta_p) + t_s(1 + F_p + 6\Theta_p)(1 - r_p)] + \\ & + 0,125(1 - t_s)^2[(1 + F_p + 6\Theta_p)(1 - r_p) + (1 + F_p + 2\Theta_p)2r_p]. \end{aligned}$$

Um outro método de estimar a coancestria dentro de progênies consiste em estimar a medida de diferenciação genética no conjunto gênico de pólen recebido por diferentes árvores matrizes (Φ_{ft}). Esta medida, Φ_{ft} , de diferenciação genética é calculada por análise TWOGENER (SMOUSE et al., 2001), que nada mais é do que uma análise de variância estimada para os gametas paternos recebidos por diferentes árvores matrizes. Trata-se de fato de uma medida de diferenciação genética do tipo F_{ST} , calculada, porém apenas entre os gametas paternos. O parâmetro Φ_{ft} é obtido como uma correlação intra-classe de componentes de variância estimados por análise de variância molecular (AMOVA). O

parâmetro Φ_{ft} é na realidade uma medida de coancestria entre os parentais paternos e é relacionado à correlação de paternidade por: $r_p = 2\Phi_{ft}$ (HARDY et al., 2004). Assim, deste estimador é possível também calcular o número efetivo de doadores de pólen $\hat{N}_{ep} = 1/2\hat{\Phi}'_{ft}$ (SMOUSE et al., 2001) e o coeficiente médio de coancestria (Θ) dentro das progênies em espécies dióicas por:

$$\hat{\Theta} = 0,125(1 + \hat{F}_p)(1 + 2\hat{\Phi}_{ft}) \text{ (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008).}$$

Um terceiro método para estimar o coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies é baseado na análise de variância de frequências gênicas entre progênies (WEIR; COCKERHAM, 1984). Este método permite a estimativa da variância genética entre progênies e, com base em correlações intra-classes (quanto maior a variação genética nas frequências alélicas entre progênies, maior é a coancestria dentro de progênies e vice-versa), de forma que é possível inferir qual é o coeficiente de coancestria dentro de progênies. Em estrutura de progênies, esta estimativa é esperada ser de no mínimo 0,125, que representa a coancestria dentro de progênies de meios-irmãos. Em termos teóricos, este estimador deve acomodar autofecundações, cruzamentos correlacionados e cruzamentos entre parentes, além de endogamia na geração parental.

Finalmente, um quarto método de estimar a coancestria dentro de progênies de polinização aberta foi proposto por Hardy et al. (2004), o qual é baseado na estimativa direta da coancestria entre os gametas paternos. Neste caso, primeiro é necessário subtrair do genótipo das progênies, as contribuições maternas, obtendo-se o gameta multiloco paterno que fertilizou cada semente. Posteriormente, estes gametas haplóides são diploizados e utilizados para o cálculo da coancestria dentro das progênies (HARDY et al., 2004). Embora este método tem sido recentemente utilizado com certa frequência (HARDY et al., 2004; NAKANISHI et al., 2009; GASPAR et al., 2009; SEBBENN et al., 2011), o problema é que ele estima apenas a proporção de meios-irmãos e irmãos-completos, não sendo adequado para espécies de sistema misto, mas apenas para espécies dióicas.

Todos estes quatro estimadores apresentados acima procuram medir em termos teóricos o mesmo parâmetro, a coancestria entre plantas dentro de progênies, mas por diferentes métodos, como visto. Entretanto, não existem estudos comparando estes diversos métodos, sendo a escolha do método de análise feita aparentemente mais pela afinidade dos pesquisadores com os programas de estimação do que por suas propriedades estatísticas. Assim, neste estudo investigou-se a estimativa do coeficiente de coancestria dentro de

progênies por esses quatro métodos apresentados, utilizando uma espécie dióica como modelo para o estudo, *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão). A escolha de uma espécie dióica se deu devido ao fato de que o estimador de Hardy et al. (2004) não acomoda autofecundações, sendo adequado apenas para espécies dióicas ou perfeitamente de cruzamento, como no caso de espécies auto-incompatíveis. Em espécies dióicas, ou perfeitamente de cruzamento, espera-se que existam apenas dois tipos de parentesco entre as plantas dentro de progênies: meios-irmãos ou irmãos-completos. Contudo, caso ocorram cruzamentos entre parentes, podem existir ainda os seguintes parentesco: i) entre meios-irmãos endogâmicos; ii) entre meios-irmãos não endogâmicos e meios-irmãos endogâmicos; iii) entre irmãos-completos endogâmicos; iv) entre irmãos-completos não endogâmicos e irmãos-completos endogâmicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Amostra

Os dados desse estudo foram obtidos a partir de amostras de progênies de polinização aberta de quatro populações, estabelecidas em testes de progênies de *M. urundeuva*. Duas populações são originadas do estado de São Paulo, uma do Mato Grosso do Sul e uma do Rio Grande do Norte. Estas populações são originárias de fragmentos florestais com forte perturbação antrópica e fazem parte do banco de conservação genético *ex situ* de *M. urundeuva*, instaladas na forma de testes de progênies na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), localizada no município de Selvíria – MS. Todas essas populações foram avaliadas para os mesmos oito locos microssatélites, desenvolvidos especificamente para a espécie (CAETANO et al., 2005). Como o objetivo deste estudo foi comparar métodos de estimação do coeficiente de coancestria dentro de progênies e estes métodos de estimação podem ser afetados por falhas na genotipagem, dos oito locos analisados, selecionou-se seis locos, com menor número de falhas (genótipos unilocos não determinados). Foram excluídos indivíduos com falhas nestes locos. Para reduzir fontes de variação, todas as progênies tinham 15 plantas e duas populações foram compostas por 12 progênies e duas por 24 progênies. O número de doze progênies é o sugerido por Ritland (2004) para estimar o erro das estimativas por reamostragem bootstrap, utilizando-se progênies como unidades de reamostragem. Portanto, trabalhou-se com conjuntos de dados balanceado.

Tabela 1- Características geográficas dos locais e número de progênies amostradas (NP) e utilizadas (NPu) nas análises das populações de *Myracrodruon urundeuva*.

População	NP	Latitude	Longitude	Altitude (m)	NPu
Aramina, SP	25	20° 03' S	47° 48' W	605	24
Bauru, SP	28	22° 19' S	49° 04' W	526	12
Selvíria, MS	25	20° 22' S	51° 26' W	372	24
Seridó, RN	12	6° 66' S	37° 40' W	160	12

Fonte: Moraes (2012)

5.2 Análise dos dados

5.2.1 Análise da diversidade genética e índice de fixação

A diversidade genética nas árvores matrizes e nas suas respectivas progênes foi caracterizada para o número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e) e heterozigosidade observada (H_o). A riqueza alélica (R) foi calculada utilizando-se rarefação, que é independente do tamanho amostral (EL MOUSSADIK; PETIT, 1996). Os níveis de endogamia dentro das amostras foram quantificados pelo índice de fixação (F). A significância estatística dos valores de F foi testada por permutação de alelos entre indivíduos (1000), utilizando uma correção para *Bonferroni* (95%, $\alpha=0,05$), para evitar falsos positivos. Todas estas análises foram realizadas utilizando o programa FSTAT, versão 2.9.3.2. (GOUDET, 1995).

5.2.2 Estimativas do coeficiente e coancestria dentro de progênes por diferentes métodos

5.2.2.1 Estimativa do coeficiente de coancestria de parâmetros do sistema de reprodução

Para estimar o coeficiente de coancestria dentro de progênes, primeiramente foram calculados parâmetros do sistema de reprodução. As análises foram baseadas nos modelos misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989) e realizadas utilizando o programa “Multilocos MLTR” (RITLAND, 2002; 2004). As análises foram conduzidas utilizando o método de máxima verossimilhança (Algoritmo Expectation-Maximization), devido ao fato de trabalhar com amostras de tamanhos moderados, 15 plantas por progênes e mínimo de 12 progênes em duas populações. Os parâmetros estimados foram a taxa populacional de cruzamento multiloco (t_m), taxa populacional de cruzamento uniloco (t_s), taxa de cruzamento entre indivíduos parentes ($t_m - t_s$), taxa efetiva de cruzamento entre parentes em caso de espécies dióicas ($1 - t_s$: ou a menor estimativa de t) e, correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). Estes parâmetros também foram estimados em nível de progênes individuais. O intervalo de confiança das estimativas foi obtido por 1000 reamostragens *bootstraps*. Como o número de progênes é modelado nas populações (mínimo de 12), as unidades de reamostragem foram plantas dentro de progênes. Estes parâmetros foram utilizados para estimar outros parâmetros demográficos

e genéticos, como número efetivo de pais polinizadores ou tamanho da vizinhança reprodutiva ($\hat{N}_{ep} = 1/\hat{r}_{p(m)}$) e o coeficiente médio de coancestria (Θ) entre plantas dentro de progênies, calculado utilizando-se a expressão para espécies dióicas, de acordo com Sousa et al. (2005):

$$\hat{\Theta} = 0,125(1 + \hat{F}_p)(1 + \hat{r}_{p(m)}).$$

Esta última expressão é adequada para espécies dióicas com endogamia na geração parental (F_p) e praticando misturas de cruzamentos aleatórios e cruzamentos correlacionados. Contudo, em caso onde ocorrem cruzamentos entre parentes, foi utilizado outro estimador, o proposto por Sebbenn (2006) para tais situações em espécies dióicas:

$$\hat{\Theta} = 0,125\hat{t}_s(1 + \hat{F}_p)(1 + \hat{r}_{p(m)}) + 0,25(1 - \hat{t}_s)[2\hat{t}_s(1 + \hat{F}_p + 2\hat{\theta}_p) + \hat{t}_s(1 + \hat{F}_p + 6\hat{\theta}_p)(1 - \hat{r}_{p(m)})] + \\ + 0,125(1 - \hat{t}_s)^2[(1 + \hat{F}_p + 6\hat{\theta}_p)(1 - \hat{r}_{p(m)}) + (1 + \hat{F}_p + 2\hat{\theta}_p)2\hat{r}_{p(m)}].$$

Nestas estimativas assumiu-se um parentesco de meios-irmãos na geração parental ($\hat{\theta}_p$).

5.2.2.2 Estimativa do coeficiente de coancestria por análise TwoGener

O coeficiente de coancestria dentro de progênies foi também calculado utilizando a diferenciação genética entre o conjunto gênico do pólen que efetivamente fertilizou as diferentes árvores matrizes (Φ_{ft}) para estimar a correlação de paternidade: $\hat{r}_p = 2\hat{\Phi}_{ft}$ (HARDY et al., 2004). A diferenciação no conjunto de pólen foi estimada por análise TWOGENER (AUSTERLITZ; SMOUSE, 2002; SMOUSE et al., 2001). O princípio do método TWOGENER é estimar a diferenciação genética nas frequências alélicas entre o conjunto de pólen (Φ_{ft}) recebido por diferentes árvores matrizes de uma população. A análise TWOGENER é feita utilizando-se o genótipo multiloco de árvores matrizes e suas respectivas sementes de polinização aberta. Como o genótipo materno é conhecido, e sabe-se que cada semente recebe no mínimo metade de seus alelos da árvore mãe, o genótipo paterno é deduzido pela subtração dos alelos maternos do genótipo das sementes. Em casos ambíguos, quando ambos genótipos maternos do filho são heterozigotos para os mesmos alelos, um alelo é aleatoriamente amostrado para representar o alelo paterno. O parâmetro Φ_{ft} foi calculado como uma correlação intra-classe de gametas masculinos (pólen) dentro de árvores femininas:

$$\hat{\Phi}_{ft} = \hat{\sigma}_A^2 / (\hat{\sigma}_d^2 + \hat{\sigma}_a^2),$$

em que σ_a^2 é a estimativa da variação genética entre os gametas maternos recebidos por diferentes árvores matrizes e σ_d^2 é a estimativa da variação genética entre os gametas dentro das progênes (SMOUSE et al., 2001). O parâmetro Φ_{ft} foi também convertido no número médio de árvores efetivamente doadoras de pólen, $\hat{N}_{ep} = 1/2\Phi_{ft}$, igualmente como foi feito pela estimativa da correlação de paternidade (SMOUSE et al., 2001; SMOUSE; SORK, 2004) e na correlação de paternidade $\hat{r}_p = 2\Phi_{ft}$ (HARDY et al., 2004). O coeficiente de coancestria dentro de progênes (Θ) foi calculado por:

$$\hat{\Theta} = 0,125(1 + \hat{F}_p)(1 + 2\hat{\Phi}_{ft}) \quad (\text{BITTENCORT; SEBBENN, 2008}).$$

Igualmente como a estimativa obtida pela análise do sistema de reprodução, esta expressão é adequada para espécies dióicas sem ou com endogamia na geração parental (F_p) e praticando misturas de cruzamentos aleatórios e cruzamentos correlacionados. Contudo, em casos onde ocorrem cruzamentos entre parentes, foi utilizado a expressão:

$$\begin{aligned} \hat{\Theta} = & 0,125\hat{t}_s(1 + \hat{F}_p)(1 + 2\hat{\Phi}_{ft}) + \\ & 0,25(1 - \hat{t}_s)[2\hat{t}_s(1 + \hat{F}_p + 2\hat{\theta}_p) + \hat{t}_s(1 + \hat{F}_p + 6\hat{\theta}_p)(1 - 2\hat{\Phi}_{ft})] + \\ & + 0,125(1 - \hat{t}_s)^2[(1 + \hat{F}_p + 6\hat{\theta}_p)(1 - 2\hat{\Phi}_{ft}) + (1 + \hat{F}_p + 2\hat{\theta}_p)4\hat{\Phi}_{ft}]. \end{aligned}$$

Observe que esta expressão é a mesma anterior para cruzamentos entre parentes, mas com a substituição de $\hat{r}_{p(m)} = 2\Phi_{ft}$.

5.2.2.3 Estimativa do coeficiente de coancestria por análise de variância de frequência gênicas

O coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênes foi também calculado a partir da análise de variância das frequências alélicas (WEIR, 1996), entre progênes. No presente caso, como a amostra está estruturada em progênes, a análise de variância forneceu a diferenciação genética entre progênes. Esta análise foi inicialmente realizada em nível de alelo e, posteriormente, conjunta para todos os alelos. Para cada alelo de cada loco das progênes foi feita a análise de variância no modelo aleatório hierárquico balanceado. Assim,

a variável x_{il} corresponde ao gene “l” na população “i”, portanto, quando x_{il} estava presente recebeu o valor um, e quando estava ausente recebeu o valor zero.

Para análise das frequências alélicas entre progênie e plantas dentro de progênie, o modelo matemático hierárquico utilizado foi:

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

em que: Y_{ijk} é a frequência do gene k, no do indivíduo j, da progênie i; m é a média geral da frequência alélica; f_i é o efeito da progênie $i = 1, 2, \dots, a$; $b_{j(i)}$ é o efeito do indivíduo j, dentro da progênie i, com $j = 1, 2, \dots, b_i$; $g_{k(ij)}$ é o efeito do gene k, no indivíduo j, dentro da progênie i, com $k = 1, 2, \dots, n_{ij}$.

As estimativas dos componentes de variância foram obtidas pela decomposição das esperanças dos quadrados médios da análise de variância, (Tabela 2), desse modo:

$$\hat{\sigma}_G^2 = QM_g$$

$$\hat{\sigma}_I^2 = (QM_I - QM_G)/2$$

$$\hat{\sigma}_F^2 = (QM_F - QM_I)/k_1$$

Em que: K_1 corresponde ao coeficiente de variância entre progênie (σ_F^2), no modelo hierárquico balanceado.

Tabela 2- Esquema da análise de variância de frequências alélicas no modelo hierárquico balanceado para progênie de *Myracrodruon urundeuva*.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	E(QM)
Progênie	a-1	SQ _F	QM _F	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2 + k_1\hat{\sigma}_F^2$
Indivíduos/progênie	$\sum_{i=1}^a b_j - a$	SQ _I	QM _I	$\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2$
Genes/indivíduos/progênie	$n.. - \sum_{i=1}^a b_j$	SQ _G	QM _G	$\hat{\sigma}_G^2$
Total	n-1			

O significado genético dos componentes da variância são definidos abaixo:

$$\hat{\sigma}_F^2 = p(1-p)\hat{\theta}_F^2$$

$$\hat{\sigma}_I^2 = p(1-p)(\hat{F} - \hat{\theta}_F)$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = p(1-p)(1 - \hat{F})$$

$$\hat{\sigma}_T^2 = \hat{\sigma}_F^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_G^2 = p(1-p);$$

em que: p é a frequência de um alelo em um determinado loco; θ_F = divergência genética entre progênies ou coancestria entre plantas dentro de progênies, calculada por: $\hat{\theta}_F = \hat{\sigma}_p^2 / \hat{\sigma}_T^2$; F é o índice de fixação para o conjunto das progênies de cada população.

5.2.2.4 Estimativa do coeficiente de coancestria pelo método de Hardy et al. (2004)

Finalmente, o coeficiente de coancestria dentro de progênies foi também estimado seguindo o método proposto por Hardy et al. (2004), que requer a computação do coeficiente de coancestria entre pares de gametas paternos. Para calcular o coeficiente de coancestria, gametas paternos foram convertidos dentro de genótipos diplóides homocigotos. O primeiro passo para isso é encontrar o gameta paterno de cada planta de cada progênie materna, o que é feito para cada loco subtraindo o gameta materno do genótipo de cada progênie. Isso pode ser feito sem ambigüidade em cada loco (no caso de marcadores co-dominantes), a não ser que ambos os genótipos maternos e da progênie sejam heterocigotos para os mesmos alelos. Em casos onde a progênie e a árvore materna forem ambos heterocigotas para os mesmos alelos (casos ambíguos), o gameta paterno será convertido em heterocigotos para estes mesmos alelos (HARDY et al., 2004). Por exemplo, se uma progênie carrega os alelos A_1 e A_2 e sua mãe os alelos A_1 e A_3 , isto significa que o alelo A_2 é o alelo paterno. Contudo, se a mãe carrega os alelos A_1 e A_2 , o pai pode ter contribuído com ambos os alelos, A_1 ou A_2 , e por isso é mantido o genótipo heterocigoto do filho como de origem paterna. Posteriormente, os gametas haplóides são diploizados e utilizados para o cálculo da coancestria dentro das progênies (HARDY et al., 2004). Esta determinação dos gametas paternos foi feita utilizando uma planilha Excel. O coeficiente de coancestria entre todos os pares de plantas dentro de progênies foram calculados utilizando o programa SPAGED1 1.3 (HARDY; VEKEMANS, 2002). O valor esperado para o coeficiente de coancestria é 0,5, se um par de genótipo tem o mesmo parental paterno e é zero se tem diferentes parentais paternos (HARDY et al., 2004).

5.2.2.5 Estimativas de outros parâmetros dependentes do coeficiente de coancestria

Adicionalmente além das estimativas do coeficiente de coancestria, também foi estimada a correlação de parentesco dentro de progênies, o tamanho efetivo e o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter o tamanho efetivo de 150. O tamanho efetivo de referência de 150 é derivado da sugestão de Nunney e Campbell (1993). Os autores sugerem multiplicar o valor de 50, proposto por Frankel e Soulé (1981) por três a dez vezes, para compensar a sobreposição de gerações, no caso de espécies onde isso ocorre, como árvores. Do coeficiente de coancestria foi calculada a covariância genética entre parentes ou correlação de parentesco dentro de progênies, $\hat{r}_{xy} = 2\Theta$. Esta estimativa foi utilizada para indicar o adequado estimador da covariância genética entre plantas dentro de progênies, utilizada no cálculo da variância genética aditiva (σ_A^2) em testes de progênies de polinização aberta: $\hat{\sigma}_A^2 = \hat{\sigma}_p^2 / \hat{r}_{xy}$, em que σ_p^2 é a variação genética entre progênies.

O tamanho efetivo foi calculado pela expressão:

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\left[\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_o}{2n} \right]} \quad (\text{COCKERHAM, 1969}),$$

em que n é o tamanho amostral. O número de árvores matrizes para a coleta de sementes foi calculado com base em Sebbenn (2003): $\hat{m} = N_{e(\text{referência})} / \hat{N}_{e(v)}$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Descrição da diversidade genética e índice de fixação nas populações

Para o conjunto dos seis locos, na amostra total das quatro populações foram encontrados 126 alelos. Devido ao menor tamanho amostral, as matrizes sempre apresentaram menor número de alelos do que suas respectivas progênies (Tabela 3). Este número variou de 28 a 40 nas árvores matrizes e de 52 a 81 nas progênies. Isso se deve ao fato de que as progênies contém a contribuição paterna (pólen), o que pode representar muitas árvores da população reprodutiva de origem.

Comparando populações de mesmos tamanhos amostrais (12 progênies: Bauru e Seridó; 24 progênies: Aramina e Selvíria), a Bauru e a Aramina tinham menor número total de alelos em ambas amostras das matrizes e de suas progênies do que Seridó e Selvíria, respectivamente (Tabela 3). Adultos da população Bauru tinham significante menor número médio de alelos por locos, riqueza alélica, heterozigosidade esperada, heterozigosidade observada e índice de fixação do que adultos de Seridó. Contudo, as progênies da população Bauru tinham significante maior heterozigosidade observada e menor índice de fixação do que progênies de Seridó. Adultos da população Aramina tinham significante menor número médio de alelos por locos, riqueza alélica e heterozigosidade observada do que adultos de Selvíria. Contudo, as progênies da população Aramina tinham significante menor número médio de alelos por locos e riqueza alélica do que progênies de Selvíria. Em geral, o índice de fixação (Tabela 3) foi negativo nos locos e em todas as amostras, sendo a média negativa em todos os casos. Isso sugere um excesso de heterozigotos em relação ao que seria esperado em populações em Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 3- Diversidade genética e índice de fixação (F) nas árvores matrizes e suas respectivas progênie de quatro populações de *Myracrodruon urunduva*.

Loco	Bauru: Matrizes (n=12)					Bauru: Progênie (n=180)				
	A	R_{12}	H_e	H_o	F	A	R_{12}	H_e	H_o	F
SR72	9	9	0,84	1,00	-0,189	15	8,19	0,84	0,88	-0,055
SR94	2	2	0,52	0,42	0,203	5	3,06	0,55	0,79	-0,451*
SR282	9	9	0,84	1,00	-0,195	13	8,10	0,83	0,70	0,154
SR392	4	4	0,62	1,00	-0,62	9	5,25	0,69	0,85	-0,231*
SR200	2	2	0,46	0,67	-0,467	5	2,98	0,47	0,56	-0,177
SR67	2	2	0,52	0,58	-0,132	5	2,94	0,56	0,97	-0,746*
Média	4,67	4,67	0,63	0,78	-0,232	8,67	5,09	0,66	0,79	-0,21
IC _{95%} -Inf	4,39	4,39	0,62	0,76	-0,255	8,30	4,88	0,64	0,78	-0,236-
IC _{95%} -Sup	4,95	4,95	0,65	0,80	-0,209	9,03	5,29	0,67	0,80	-0,184
Total	28					52				
Loco	Seridó: Matrizes (n=12)					Seridó: Progênie (n=180)				
	A	R_{12}	H_e	H_o	F	A	R_{12}	H_e	H_o	F
SR72	14	12,49	0,95	1,00	-0,052	25	6,98	0,93	0,67	0,278*
SR94	3	2,72	0,48	0,67	-0,386	5	2,00	0,52	0,63	-0,217
SR282	8	8,30	0,88	1,00	-0,143	15	8,21	0,85	0,63	0,255*
SR392	5	4,83	0,69	0,92	-0,322	6	4,37	0,72	0,84	-0,164*
SR200	3	4,30	0,24	0,25	-0,065	6	4,86	0,56	0,66	-0,179*
SR67	2	3,36	0,23	0,25	-0,100	6	2,00	0,54	0,73	-0,352*
Média	5,83	6,00	0,58	0,68	-0,179*	10,50	4,74	0,69	0,70	-0,011
IC _{95%} -Inf	5,46	5,69	0,55	0,65	-0,191	9,85	4,53	0,67	0,69	-0,033
IC _{95%} -Sup	6,20	6,30	0,60	0,71	-0,167	11,15	4,94	0,70	0,70	-0,011
Total	35					63				

IC_{95%}-Inf e IC_{95%}-Sup são o intervalo de confiança inferior e superior a 95% de probabilidade, respectivamente, calculado por reamostragem jackknife; * significativo a 95% de probabilidade, após correção de Bonferroni para múltiplos testes. A é o número de alelos por locos; R_{12} é a riqueza alélica calculada por rarefação para o número mínimo de 12 indivíduos; H_e é a heterozigosidade esperada; H_o e a heterozigosidade observada.

Fonte: Moraes (2012)

Continuação da Tabela 3.

Loco	Aramina: Matrizes (n=24)					Aramina: Progênes (n=360)				
	A	R_{12}	H_e	H_o	F	A	R_{12}	H_e	H_o	F
SR72	8	6,98	0,84	1,00	-0,192	22	9,22	0,87	0,92	-0,063
SR94	2	2,00	0,50	0,88	-0,769*	6	2,88	0,54	0,76	-0,408
SR282	9	8,21	0,87	1,00	-0,146	16	8,53	0,87	0,81	0,073*
SR392	5	4,37	0,65	0,92	-0,404	12	5,91	0,72	0,84	-0,163
SR200	6	4,86	0,68	0,79	-0,159	8	4,30	0,62	0,61	0,013
SR67	2	2,00	0,46	0,63	-0,348	6	3,21	0,62	0,91	-0,459*
Média	5,33	4,74	0,67	0,87	-0,300	11,67	5,67	0,71	0,81	-0,143
IC _{95%} -Inf	5,09	4,53	0,65	0,86	-0,319	11,15	5,45	0,69	0,80	-0,161
IC _{95%} -Sup	5,57	4,94	0,68	0,88	-0,281	12,19	5,89	0,72	0,82	-0,125
Total	32					70				
Loco	Selvária: Matrizes (n=24)					Selvária: Progênes (n=360)				
	A	R_{12}	H_e	H_o	F	A	R_{12}	H_e	H_o	F
SR72	8	6,61	0,77	0,92	-0,198	20	7,90	0,81	0,95	-0,171*
SR94	3	2,50	0,50	0,79	-0,589*	10	3,89	0,60	0,67	-0,122*
SR282	15	11,12	0,90	1,00	-0,110	24	10,68	0,90	0,83	0,070*
SR392	5	4,49	0,66	0,92	-0,381*	12	6,16	0,74	0,92	-0,249*
SR200	7	5,64	0,59	0,75	-0,280	10	5,19	0,58	0,68	-0,162*
SR67	2	2,00	0,51	0,75	-0,484*	5	3,68	0,68	0,90	-0,327*
Média	6,67	5,39	0,65	0,85	-0,307*	13,50	6,25	0,72	0,83	-0,151*
IC _{95%} -Inf	6,28	5,12	0,64	0,85	-0,322	12,92	6,03	0,71	0,82	-0,162
IC _{95%} -Sup	7,05	5,66	0,67	0,86	-0,292	14,08	6,47	0,73	0,84	-0,140
Total	40					81				

IC_{95%}-Inf e IC_{95%}-Sup são o intervalo de confiança inferior e superior a 95% de probabilidade, respectivamente, calculado por reamostragem jackknife; * significativo a 95% de probabilidade, após correção de Bonferroni para múltiplos testes. A é o número de alelos por locos; R_{12} é a riqueza alélica calculada por rarefação para o número mínimo de 12 indivíduos; H_e é a heterozigosidade esperada; H_o e a heterozigosidade observada.

Fonte: Moraes (2012)

6.2 Estimação do coeficiente de coancestria a partir de parâmetros do sistema de reprodução

6.2.1 Taxa de cruzamento

Myracrodruon urundeuva é uma espécie dióica (CARVALHO, 1994; MORAES et al., 2004; GAINO et al., 2011), portanto produz sementes somente por cruzamentos. As estimativas da taxa de cruzamento multilocos (t_m) obtidas em todas as quatro populações confirmam esta expectativa (Tabela 4). A taxa de cruzamento multilocos não foi significativamente diferente da unidade (1,0) em nenhuma das quatro populações estudadas. Portanto, todas as progênes foram geradas por cruzamentos. Por sua vez, a taxa de cruzamentos unilocos (t_s) foi significativamente menor que a unidade (logo também significativamente diferente da taxa de cruzamento multilocos) apenas na população Seridó. Como *M. urundeuva* é uma espécie dióica, não ocorre autofecundação, todas as diferenças entre a taxa de cruzamento multiloco e unilocos ($t_m - t_s$) ou em espécies dióicas entre a unidade e a menor estimativa de cruzamento (aqui no caso $1 - t_s$) podem ser atribuídas aos cruzamentos entre indivíduos aparentados. As estimativas deste parâmetro detectaram 12% ($1 - t_s$) de cruzamentos entre parentes na população de Seridó. Nas demais populações essa porcentagem de cruzamento é praticamente nula. A substancial taxa de cruzamento entre parentes na população de Seridó pode ser explicada pela possibilidade de haver alta taxa de parentesco entre as plantas dentro da população, devido a existência de estrutura genética espacial intrapopulacional. O cruzamentos entre parentes, em geral, está associado a presença de estrutura genética espacial intrapopulacional (MORAES et al., 2004). *Myracrodruon urundeuva* dispersa as suas sementes pelo vento, logo tem potencial teórico para dispersar suas sementes por longas distâncias. Estudos da estrutura genética espacial em populações de *Myracrodruon urundeuva* foram detectados que árvores próximas eram parentes entre si dentro das populações (MORAES et al., 2005; GAINO et al., 2010). Este resultado foi explicado pelos autores, pela barreira que a alta densidade vegetal arbórea nas populações causa à dispersão de sementes pelo vento, fazendo que muitas sementes sejam dispersas, germinem e se estabeleçam como indivíduos, próximas às árvores matrizes. É possível que isso também ocorra na população Seridó, o que explicaria os cruzamentos entre parentes. Nas demais populações, possivelmente também ocorre estrutura genética espacial, ou algumas árvores podem ser parentes em algum nível. Ainda, é possível que as estimativas obtidas

sejam uma subestimativa da taxa de cruzamento entre parentes, visto que estas árvores avaliadas encontram-se em estado juvenil (referem-se a estimativas realizadas, não as que efetivamente ocorreram durante o evento de reprodução) e pode ter havido seleção entre a fase de fertilização e acesso dos genótipos (plantas juvenis) via marcadores microssatélites, eliminando parte da endogamia biparental.

Tabela 4- Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em quatro populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Parâmetros	Bauru (IC a 95%)	Seridó (IC a 95%)	Aramina (IC a 95%)	Selvíria (IC a 95%)
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	1,00 (1,00 a 1,00)	1,00 (1,00 a 1,00)	1,00 (1,00 a 1,00)	0,99 (0,99 a 1,00)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	1,00 (0,99 a 1,00)	0,88 (0,86 a 0,91)	1,00 (0,99 a 1,00)	0,99 (0,99 a 1,00)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,00 (0,00 a 0,00)	0,12 (0,09 a 0,14)	0,00 (0,00 a 0,00)	0,00 (-0,00 a 0,00)
Taxa efetiva de cruzamento entre parentes: $1 - t_s$	0,00 (0,00 a 0,00)	0,12 (0,09 a 0,14)	0,00 (0,00 a 0,00)	0,01 (0,00 a 0,01)
Correlação de paternidade: $r_{p(m)}$	0,265 (0,191 a 0,321)	0,164 (0,103 a 0,210)	0,163 (0,115 a 0,197)	0,175 (0,130 a 0,212)
Número efetivo de doadores de pólen: N_{ep}	3,80 (3,10 a 5,20)	6,10 (4,80 a 9,70)	6,10 (5,10 a 8,70)	5,70 (4,70 a 7,70)
Proporção de meios-irmãos: P_{MI}	0,73 (0,68 a 0,81)	0,84 (0,08 a 0,90)	0,84 (0,80 a 0,88)	0,82 (0,79 a 0,87)
Proporção de irmãos-completos: P_{IC}	0,26 (0,19 a 0,32)	0,16 (0,10 a 0,21)	0,16 (0,11 a 0,20)	0,17 (0,13 a 0,21)
Coefficiente de coancestria dentro de progênies: Θ	0,158 (0,149 a 0,165)	0,153 (0,147 a 0,157) ¹	0,145 (0,139 a 0,150)	0,147 (0,141 a 0,152)
Coefficiente de parentesco dentro de progênies: r_{xy}	0,316 (0,298 a 0,330)	0,306 (0,294 a 0,314)	0,290 (0,278 a 0,300)	0,294 (0,282 a 0,304)
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	2,76 (2,67 a 2,90)	2,77 (2,71 a 2,86)	2,96 (2,89 a 3,06)	2,93 (2,86 a 3,03)
Número de matrizes para a coleta de sementes: m	54 (52 a 56)	54 (52 a 55)	51 (49 a 52)	51 (50 a 52)

IC a 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 1000 reamostragens bootstraps sobre locos. *significativo a 95% de probabilidade.

¹ Estimativa obtida considerando a ocorrência de cruzamentos entre parentes.

Fonte: Moraes (2012)

6.2.2 Cruzamentos correlacionados

A correlação de paternidade ($r_{p(m)}$) mede a proporção de progênies de polinização aberta que são irmãos-completos ou em termos probabilísticos, a probabilidade de se amostrar duas plantas dentro de progênies, produzidas por cruzamentos e ambas terem sido originadas de mesmo parental paterno (RITLAND, 1989). Isto significa que parte das sementes produzidas por uma simples árvore é originada de uma pequena população reprodutiva, com pólen advindo de poucos genitores e as sementes podem incluir diferentes graus de parentesco (SEBBENN, 2006). A correlação de paternidade foi significativamente diferente de zero em todas as quatro populações (Tabela 4), variando de 0,167 na população de Aramina a 0,265 na população de Bauru, que entre 16 e 26% das progênies foram geradas por cruzamentos correlacionados (cruzamento simultâneos entre a mesma mãe e os mesmos pais), sendo estas parentes no grau de irmãos-completos. Tais valores são inferiores aos detectados na população Selvíria e Paulo de Faria, por Moraes et al. (2004) e Freitas et al. (2005), que observaram com base em locos isoenzimáticos e AFLP, respectivamente, valores maiores que 37%, embora confirmando novamente que progênies de polinização aberta da espécie, que embora seja perfeitamente de cruzamento, devido a seu sistema sexual dióico, apresentam desvios de cruzamentos aleatórios, tanto em termos de cruzamentos correlacionados como cruzamentos endogâmicos (população de Seridó). A diferença entre os resultados aqui obtidos e os obtidos por Moraes et al. (2004) e Freitas et al. (2004) pode ser atribuída a diversos fatores, como: i) devido a estes resultados terem sido obtidos com base em diferentes tipos de marcadores; isoenzimas e AFLP tem polimorfismo muito menor do que locos microssatélites e, por isso, discriminam menos os genótipos, devido ao menor número de alelos e maior frequência de alguns alelos, de forma que muitos genótipos uniloco e multilocos podem ser idênticos. Em consequência disso, uma maior proporção dos indivíduos poderia ser determinada como sendo parentes no grau de irmãos-completos; ii) por tratar-se de diferentes populações e referirem-se a diferentes eventos reprodutivos. O processo de reprodução pode ser diferente entre populações e entre diferentes eventos reprodutivos de uma mesma população, visto que o sistema de reprodução está sob controle genético, mas é influenciado por fatores ambientais que afetam o comportamento das populações dos polinizadores, bem como a fenologia de florescimento das árvores (SEBBENN, 2006).

Os cruzamentos correlacionados, detectados, ocorreram provavelmente devido ao

comportamento dos polinizadores, visitando sistematicamente árvores vizinhas e/ou devido a variações na fenologia de florescimento, fazendo que diferentes grupos de árvores de diferentes sexos (masculinas e femininas) estejam férteis em diferentes fases, reduzindo assim o número potencial de árvores doadoras de pólen. A estimativa do número efetivo de árvores doadoras de pólen (N_{ep}) variou de 3,80 (Bauru) a 6,10 (Seridó e Aramina), confirmando um relativo baixo número de árvores masculinas doando pólen para a descendência das árvores matrizes amostradas (Tabela 4). Se nas populações os cruzamentos fossem perfeitamente aleatórios, todas as árvores masculinas contribuiriam com pólen para a descendência (o que aumentaria o valor de N_{ep}) e as progênies seriam predominantemente todas meios-irmãos, que seria o esperado para a espécie em estudo.

6.2.3 Coeficiente de coancestria dentro de progênies

Em consequência dos cruzamentos entre parentes e dos cruzamentos correlacionados (Tabela 4), o coeficiente de coancestria (Θ) e a correlação de parentesco médio dentro de progênies (r_{xy}) foram maiores do que o esperado em progênies de populações panmíticas ($\Theta = 0,125$; $r_{xy} = 0,250$; respectivamente). O mínimo valor que o coeficiente de coancestria pode atingir dentro de progênies é 0,125 e do coeficiente de parentesco é 0,250 ($r_{xy} = 2\Theta$), em caso de cruzamentos perfeitamente aleatórios entre um grande número de árvores não parentes e não endogâmicas. O coeficiente médio de coancestria dentro de progênies variou entre as populações de 0,145 (Aramina) a 0,158 (Bauru), confirmando que as plantas dentro das progênies não são compostas puramente por meios-irmãos e que ocorreram desvios de cruzamentos aleatórios. Cruzamentos correlacionados e cruzamentos entre indivíduos parentes aumentam a identidade por descendência dos alelos dentro das progênies e, conseqüentemente, aumentam a estimativa do coeficiente de coancestria e de parentesco.

O conhecimento do coeficiente de parentesco entre plantas dentro de progênies é de fundamental importância em programas de melhoramento genético visto que este é usado na estimativa da variância genética aditiva, ou seja, a variância genética que é transmitida entre as gerações e, portanto, é a responsável pela semelhança entre pais e filhos (NAMKOONG, 1966; SQUILLACE, 1974; RITLAND, 1989; FALCONER; MACKAY, 1998). A estimativa do

coeficiente de parentesco dentro das progênies (Tabela 4) variou de 0,290 (Aramina) a 0,316 (Bauru), sendo portanto, maior do que os 0,25 preditos para progênies de meios-irmãos. Isto implica que a estimativa da variância genética aditiva nestas quatro populações deve ser calculada utilizando-se específicos valores, para cada população. Tais resultados implicam ainda que assumir progênies de polinização aberta nestas populações de *M. urundeuva* vai gerar superestimativas na variância genética aditiva, e conseqüentemente nos parâmetros genéticos que são estimados a partir desta importante variância, como herdabilidades, valores genéticos e ganhos na seleção. Esses resultados predizem superestimativas substanciais na variância genética aditiva e herdabilidades, variando de 16% $[(0,290-0,25)/0,25]$ a 26% $[(0,316-0,25)/0,25]$, caso o modelo de cruzamentos aleatório fosse assumido como verdadeiro.

6.3 Estimação da correlação de paternidade e coeficiente de coancestria a partir da análise TWOGENER

O coeficiente de coancestria dentro de progênies foi também estimado a partir da medida de diferenciação genética entre o conjunto de pólen que fertilizou as diferentes árvores matrizes (Φ_{ft}) dentro das populações, calculado por análise TwoGener (Tabela 5). A diferenciação genética no pólen cruzado (Φ_{ft}) foi significativamente diferente de zero em todas as populações, variando de 0,113 (Seridó) a 0,223 (Bauru), sugerindo estruturação genética no conjunto do pólen que as diferentes árvores matrizes receberam dentro das populações. Esta medida Φ_{ft} é na realidade um coeficiente de coancestria entre os parentais paternos e, visto que seu cálculo é feito apenas com base na contribuição genética paterna (pólen) para a descendência de progênies maternas, assim, pode ser transformada na correlação de paternidade, $r_p = 2\Phi_{ft}$ (HARDY et al., 2004). Atualmente, na literatura não existem muitos relatos de estimação de diferenciação do pólen entre as matrizes, mas estes valores estimados aqui são os maiores obtidos, em comparação com outras espécies arbóreas tropicais, tais como: *Araucaria angustifolia* ($\Phi_{ft} = 0,084$, BITTENCOURT; SEBBENN, 2008), *Bagassa guianensis* ($\Phi_{ft} = 0,081-0,104$, SILVA et al., 2008), *Dinizia excelsa* ($\Phi_{ft} = 0,002-0,104$, Dick et al., 2003) e *Sextonia rubra* ($\Phi_{ft} = 0,061$, VERON et al., 2005).

Tabela 5- Estimativa de parâmetros genéticos dentro de progênes a partir da análise Twogener em populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Parâmetro	Bauru (IC 95%)	Seridó (IC 95%)	Aramina (IC 95%)	Selvíria (IC 95%)
Número de árvores matrizes	12	12	24	24
Número de plantas dentro de progênes	180	180	360	360
Diferenciação no pólen entre matrizes: Φ_{fi}	0,223 (0,110 a 0,407)	0,113 (0,072 a 0,142)	0,116 (0,084 a 0,167)	0,123 (0,073 a 0,158)
Correlação de paternidade: r_p	0,446 (0,221 a 0,814)	0,226 (0,145 a 0,285)	0,232 (0,167 a 0,335)	0,246 (0,145 a 0,317)
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	2,24 (4,53 a 1,23)	4,42 (6,90 a 3,51)	4,31 (5,99 a 2,99)	4,07 (6,89 a 3,16)
Coancestria média dentro de progênes: Θ^1	0,181 (0,153 a 0,227)	0,153 (0,143 a 0,161)	0,154 (0,146 a 0,167)	0,156 (0,143 a 0,165)
Parentesco dentro das progênes: r_{xy}	0,362 (0,305 a 0,454)	0,307 (0,286 a 0,321)	0,308 (0,292 a 0,334)	0,311 (0,286 a 0,329)
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	2,47 (2,85 a 2,04)	2,84 (3,00 a 2,73)	2,82 (2,95 a 2,64)	2,80 (3,00 a 2,67)
Número de matrizes: m	61 (53 a 74)	53 (50 a 55)	53 (51 a 57)	54 (50 a 56)

m o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes foi calculado visando reter o tamanho efetivo de 150.

¹ Estimativa obtida considerando a ocorrência de cruzamentos entre parentes.

Fonte: Moraes (2012)

A correlação de paternidade estimada de Φ_{fi} (Tabela 5) foi maior do que a estimada usando o modelo de cruzamentos correlacionados de Ritland (1989). Este valor variou entre as populações de 0,226 (Seridó e Selvíria) a 0,446 (Bauru e Aramina). Conseqüentemente, o número efetivo de árvores doadoras de pólen foi maior na população de Seridó (4,42) e menor na população de Bauru (2,24). O coeficiente de coancestria dentro de progênies variou de 0,153 (Seridó) a 0,181 (Bauru) e foi geralmente superior aos estimados de parâmetros do sistema de reprodução, embora não significativamente diferente desses. A pequena diferença entre os dois métodos de estimação se deve ao método. O modelo de cruzamentos correlacionados de Ritland (1989) usa um método de máxima verossimilhança para estimar a correlação de paternidade e, assim, explora melhor as informações multilocos. O modelo Twogener, por sua vez, estima este parâmetro indiretamente, a partir de um coeficiente de correlação intraclasse. Desta forma, pode-se esperar, e observar diferenças entre os dois métodos (WENDT et al., 2009). Contudo, em termos gerais, ambos os métodos indicam que as progênies são compostas por misturas de meios-irmãos e irmãos-completos devido aos cruzamentos correlacionados.

A correlação de paternidade variou de 0,173 (Aramina e Seridó) a 0,315 (Bauru) e o coeficiente de coancestria variou de 0,146 (Seridó) a 0,165 (Bauru), valores estes maiores do que os estimados usando o método de Ritland (1989) (Tabela 6).

Tabela 6- Estimativa da correlação de paternidade da análise TwoGener e do coeficiente de coancestria dentro de progênie em quatro populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Progênie	Bauru		Seridó		Aramina		Selvíria	
	r_p	Θ	r_p	Θ	r_p	Θ	r_p	Θ
1	0,056	0,132	0,329	0,166	0,170	0,146	0,389	0,174
2	0,348	0,168	0,209	0,151	0,313	0,164	0,200	0,150
3	0,052	0,132	0,091	0,136	0,751	0,219	0,190	0,149
4	0,136	0,142	0,164	0,145	0,161	0,145	0,250	0,156
5	0,150	0,144	0,083	0,135	0,065	0,133	0,082	0,135
6	0,296	0,162	0,067	0,133	0,162	0,145	0,069	0,134
7	0,353	0,169	0,034	0,129	0,051	0,131	0,236	0,155
8	0,183	0,148	0,151	0,144	0,072	0,134	0,206	0,151
9	0,440	0,180	0,233	0,154	0,239	0,155	0,252	0,156
10	0,540	0,193	0,050	0,131	0,106	0,138	0,218	0,152
11	0,751	0,219	0,444	0,180	0,110	0,139	0,174	0,147
12	0,479	0,185	0,217	0,152	0,097	0,137	0,002	0,125
13					0,064	0,133	0,120	0,140
14					0,076	0,135	0,311	0,164
15					0,149	0,144	0,084	0,136
16					0,158	0,145	0,102	0,138
17					0,077	0,135	0,452	0,181
18					0,157	0,145	0,183	0,148
19					0,191	0,149	0,238	0,155
20					0,126	0,141	0,146	0,143
21					0,152	0,144	0,132	0,141
22					0,171	0,146	0,281	0,160
23					0,294	0,162	0,095	0,137
24					0,232	0,154	0,108	0,138
Média	0,315	0,165	0,173	0,146	0,173	0,147	0,188	0,148

Fonte: Moraes (2012)

6.4 Coancestria dentro de progênies, estimada por análise da variância nas frequências gênicas

A estimativa do coeficiente de coancestria, estimada por análise de variância de frequências gênicas entre progênies, apresentou valores médios significativamente diferentes de zero em todas as populações, mas menores do que o esperado em progênies de meios-irmãos ($\theta_F = 0,125$) em três das quatro populações estudadas (Tabela 7). Em dois destes três casos, o valor estimado foi inclusive significativamente menor do que 0,125. Isso claramente indica uma subestimativa da coancestria entre plantas dentro de progênies e que este método não é o mais adequado para este fim. Como uma consequência, o tamanho efetivo de variância total do conjunto das progênies está subestimado nestes três casos. Ressalta-se que a grande diferença entre os valores do tamanho efetivo apresentado na Tabela 7 e os apresentados, nas Tabelas 4 e 5 se deve ao fato que os valores da Tabela 7 são medidas totais sobre todas as progênies, e não uma média entre progênies, como nos outros casos.

Tabela 7- Estimativas do coeficiente de coancestria dentro de progênies (θ_F) pela análise de variância em quatro populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Parâmetros	Bauru	Seridó	Aramina	Selvória
Variância entre alelos dentro de indivíduos: σ_g^2	4,756	4,172	4,842	4,956
Variância entre indivíduos dentro de progênies: σ_i^2	-1,079	-0,532	-1,001	-0,989
Variância genética entre progênies: σ_f^2	0,277	0,526	0,413	3,353
Variância genética total: σ_T^2	3,954	4,166	4,254	4,320
Coancestria média dentro de progênies: θ_F	0,070 (0,029 a 0,108)*	0,126 (0,039 a 0,200)*	0,097 (0,059 a 0,127)*	0,082 (0,054 a 0,116)*
Tamanho efetivo para o conjunto das progênies: $N_{e(v)}$	65,2	39,7	100,6	114,6

* P<0,05.

Fonte: Moraes (2012)

6.5 Estimativas do coeficiente de coancestria pelo método de Hardy et al. (2004)

Na Tabela 8 pode-se observar , em nível de média, para todas as quatro populações, o estimador de Loiselle et al.(1995) foi superior ao estimador de Ritland (1996), com valores variando de 0,076 (Selvória) a 0,088 (Seridó) ,pelo método de Ritland (1996), e de 0,110 (Selvória) a 0,146 (Aramina), pelo método de Loiselle et al.(1995). Este resultado indica o estimador de Loiselle et al.(1995) como mais adequado entre esses dois métodos, pois os valores ficaram mais próximos ao mínimo esperado (0,125).

Tabela 8- Média e desvio padrão do coeficiente de coancestria de Loisselle et al. (1995) e Ritland (1996) estimado dentro de progênies em quatro populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Progênie	Bauru		Seridó		Aramina		Selvária	
	Loisselle et al. (1995)	Ritland (1996)	Loisselle et al. (1995)	Ritland (1996)	Loisselle et al. (1995)	Ritland (1996)	Loisselle et al. (1995)	Ritland (1996)
	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD	Médias±SD
1	0,009±0,221	0,011±0,202	0,209±0,231	0,097±0,231	0,127±0,247	0,024±0,098	0,226±0,218	0,137±0,209
2	0,133±0,302	0,131±0,369	0,174±0,228	0,151±0,342	0,357±0,206	0,160±0,368	0,032±0,236	0,025±0,144
3	0,206±0,305	0,069±0,141	0,108±0,275	0,057±0,187	0,263±0,297	0,107±0,117	0,064±0,268	0,072±0,247
4	0,071±0,246	0,052±0,212	0,123±0,250	0,071±0,147	0,109±0,275	0,093±0,244	0,160±0,259	0,055±0,107
5	0,099±0,243	0,048±0,142	0,065±0,235	0,038±0,146	0,116±0,263	0,050±0,133	0,095±0,234	0,055±0,201
6	0,203±0,273	0,125±0,254	0,019±0,260	0,023±0,188	0,114±0,269	0,050±0,118	0,126±0,205	0,072±0,187
7	0,094±0,230	0,140±0,307	0,059±0,244	0,066±0,162	0,111±0,210	0,095±0,159	0,084±0,210	0,073±0,298
8	0,056±0,173	0,047±0,143	0,170±0,307	0,107±0,226	0,053±0,246	0,027±0,108	0,144±0,259	0,061±0,152
9	0,042±0,171	0,022±0,187	0,251±0,267	0,111±0,156	0,108±0,209	0,054±0,175	0,135±0,269	0,084±0,257
10	0,158±0,213	0,071±0,164	0,223±0,244	0,141±0,140	0,056±0,200	0,044±0,243	0,124±0,266	0,127±0,268
11	0,254±0,368	0,155±0,180	0,180±0,250	0,091±0,207	0,063±0,205	0,017±0,102	0,090±0,232	0,035±0,120
12	0,120±0,241	0,097±0,267	0,086±0,247	0,105±0,269	0,054±0,258	0,096±0,352	0,082±0,258	0,029±0,141
13					0,050±0,264	0,012±0,123	0,013±0,209	0,062±0,313
14					0,135±0,234	0,044±0,095	0,152±0,215	0,081±0,170
15					0,120±0,342	0,087±0,182	0,067±0,215	0,032±0,140

Continuação da Tabela 8

16					0,097±0,235	0,020±0,089	0,190±0,286	0,091±0,260
17					0,093±0,297	0,063±0,311	0,230±0,243	0,279±0,383
18					0,214±0,220	0,099±0,117	0,150±0,279	0,079±0,139
19					0,262±0,228	0,373±0,327	0,216±0,280	0,149±0,224
20					0,118±0,214	0,063±0,159	0,080±0,269	0,088±0,223
21					0,084±0,208	0,078±0,440	0,013±0,276	0,028±0,143
22					0,173±0,214	0,088±0,283	0,110±0,292	0,064±0,116
23					0,345±0,269	0,148±0,160	0,024±0,255	0,020±0,102
24					0,252±0,318	0,127±0,314	0,031±0,225	0,014±0,123
Média	0,121±0,263	0,081±0,228	0,139±0,262	0,088±0,210	0,146±0,264	0,085±0,235	0,110±0,257	0,076±0,214
SD/Média	2,17	2,81	1,88	2,38	1,81	2,76	2,34	2,81
CV(%)	217	281	188	238	181	276	234	281

Fonte: Moraes (2012)

6.6 Comparação entre os métodos de estimação do coeficiente de coancestria

Atualmente, existem vários métodos de estimação do coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies. No presente estudo foi apresentado alguns métodos, no qual pode-se observar diferenças nos seus valores tanto entre as populações como entre os métodos utilizados. É natural que existam diferenças nos valores estimados pelos diferentes métodos, visto tratar-se de métodos de estimação com princípios destinados: *i*) o método de Ritland (1989) estima a coancestria dentro de progênies, com base em parâmetros do sistema de reprodução, como taxa de cruzamento, variação individual na taxa de cruzamento e correlação de paternidade, além de levar em conta a endogamia na geração parental. Em outros termos, em função do processo de reprodução, têm-se diferentes proporções de parentescos dentro de progênies. Este método é na realidade uma média ponderada dos diferentes tipos de parentescos que existem dentro das progênies. No caso de espécies dióicas, as quais podem conter meios-irmãos e irmãos-completos, estes estimados pode ser em resumos pela expressão: $\Theta = P_{MI}\theta_{MI} + P_{IC}\theta_{IC}$, em que P_{MI} e P_{IC} são a proporção de meios-irmãos e irmãos-completos, respectivamente e θ_{MI} e θ_{IC} são os coeficientes de coancestria entre meios-irmãos e irmãos-completos, respectivamente. Por isso, o mínimo valor que este estimador calcula é o valor esperado em progênies de meios-irmãos (0,125). *ii*) O método TwoGener, também separa a contribuição gamética materna e paterna das sementes e, utilizando análise de variância molecular, determina a diferenciação no conjunto de pólen recebido por diferentes árvores matrizes, o qual, na realidade, corresponde a coancestria entre plantas dentro de progênies, visto tratar-se de uma medida de correlação intra-classe. *iii*) A estimativa do coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies, por análise de variância nas frequências gênicas, é esperado calcular valores que representam a média dos parentescos dentro das progênies, visto que a forma de reprodução (autofecundações, cruzamentos correlacionados e cruzamentos entre parentes) determina as frequência dos alelos dentro das progênies. Contudo, o que se observou foi que este estimador subestima o parentesco dentro das progênies, sendo que ,em todos os casos, os valores calculados eram menores do que o mínimo esperado dentro de progênies (0,125). Assim, de acordo com os resultados, este estimador não é o mais adequado para este fim. *iv*) O método de Hardy et al. (2004) desconsidera o processo de reprodução e estima diretamente o coeficiente de coancestria dentro de progênies como uma média do parentesco entre todos os pares de indivíduos existentes dentro de cada

progênie, mas tendo como base apenas a contribuição gamética paterna. Neste método, se locos altamente polimórficos são utilizados, é esperado também produzir estimativas de coancestria com certo grau de precisão do verdadeiro parentesco existente entre plantas dentro de progênies (meios-irmãos e irmãos completos no caso de espécies dióicas). Aqui, o método de Hardy et al. (2004) foi utilizado, estimando a coancestria dentro das progênies por dois diferentes estimadores de coancestria: o de Loiselle et al. (1995) e o de Ritland (1996). Os resultados indicam que ambos estimadores produzem valores muitas vezes inferiores ao valor mínimo esperado dentro de progênies de polinização aberta (0,125). O estimador de Ritland (1996) calculou valores sempre muito abaixo do mínimo esperado, sendo portanto inadequado para este fim. O estimador de Loiselle et al. (1995) calculou valores sempre próximos ou superiores ao mínimo esperado, sendo portanto, mais adequado do que o método de Ritland (1996), para este fim. Contudo, em dois casos, os valores foram ainda inferiores ao mínimo esperado de 0,125, logo também não é o método mais indicado para estimar o coeficiente de coancestria dentro de progênies.

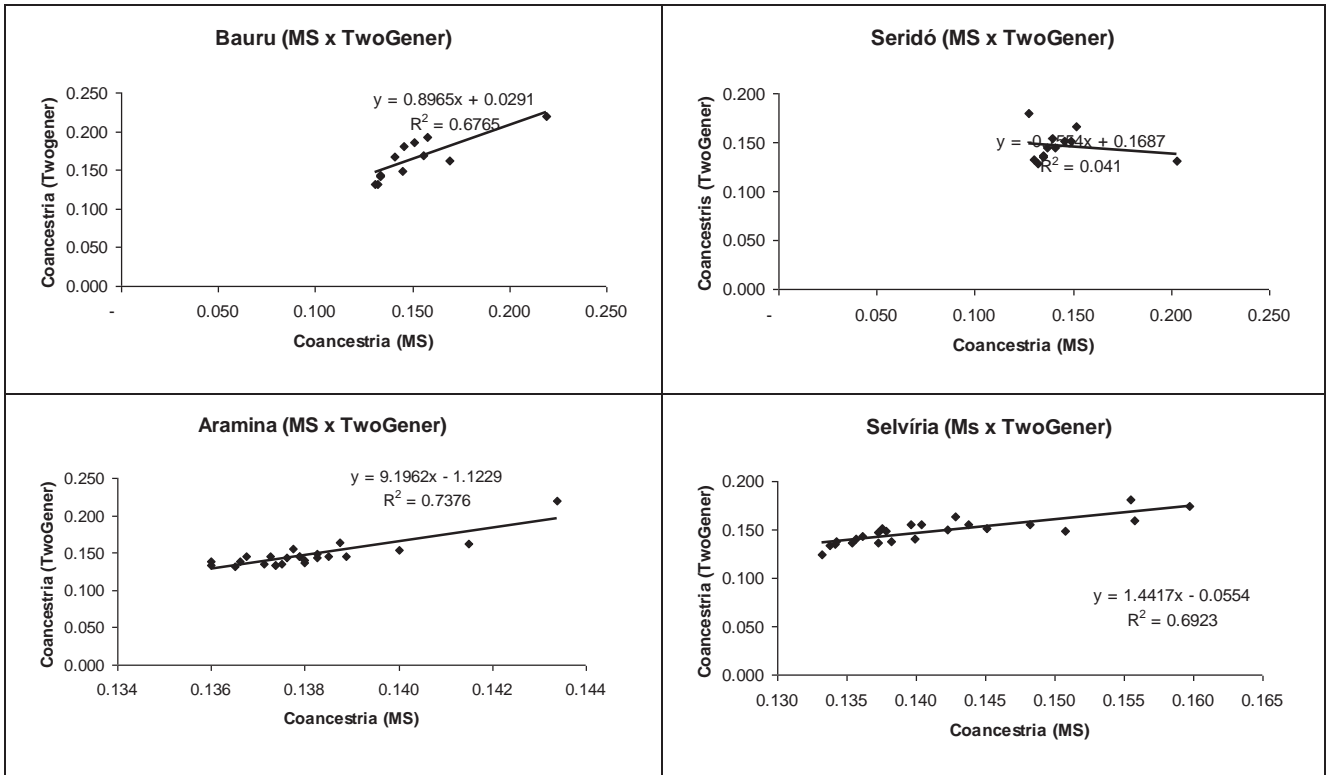
O método mais preciso e fácil de obter os resultados das estimativas do coeficiente de coancestria foi o método da análise de parâmetros do sistema de reprodução, utilizando o estimador de Ritland (1989) que é calculado pelo programa MLTR. Por este método obteve-se os valores mais próximos do esperado em progênies de polinização aberta, variando de 0,145 a 0,158 (Tabela 4).

A determinação do método mais apropriado para a estimação do coeficiente de coancestria é de suma importância, pois a partir deste valor pode-se calcular outros parâmetros como a correlação de parentesco dentro de progênies, o tamanho efetivo e o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter um determinado tamanho efetivo. Assim, se o valor do coeficiente de coancestria for calculado com base em um estimador que subestima a coancestria dentro de progênies, irá acarretar numa subestimativa da correlação de parentesco dentro de progênies e, conseqüentemente, uma superestimativa no tamanho efetivo, que por sua vez vai subestimar o número necessário de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes. Assim, com base nas comparações dos quatro métodos, sugere-se utilizar o método de Ritland (1989).

Finalmente, com base em estimativas obtidas em nível de progênies, fez-se o estudo da associação entre os métodos de estimação do coeficiente de coancestria de Ritland (1989), TwoGener e Hardy et al. (2004), no último caso comparando ambos estimadores de Loiselle et al.

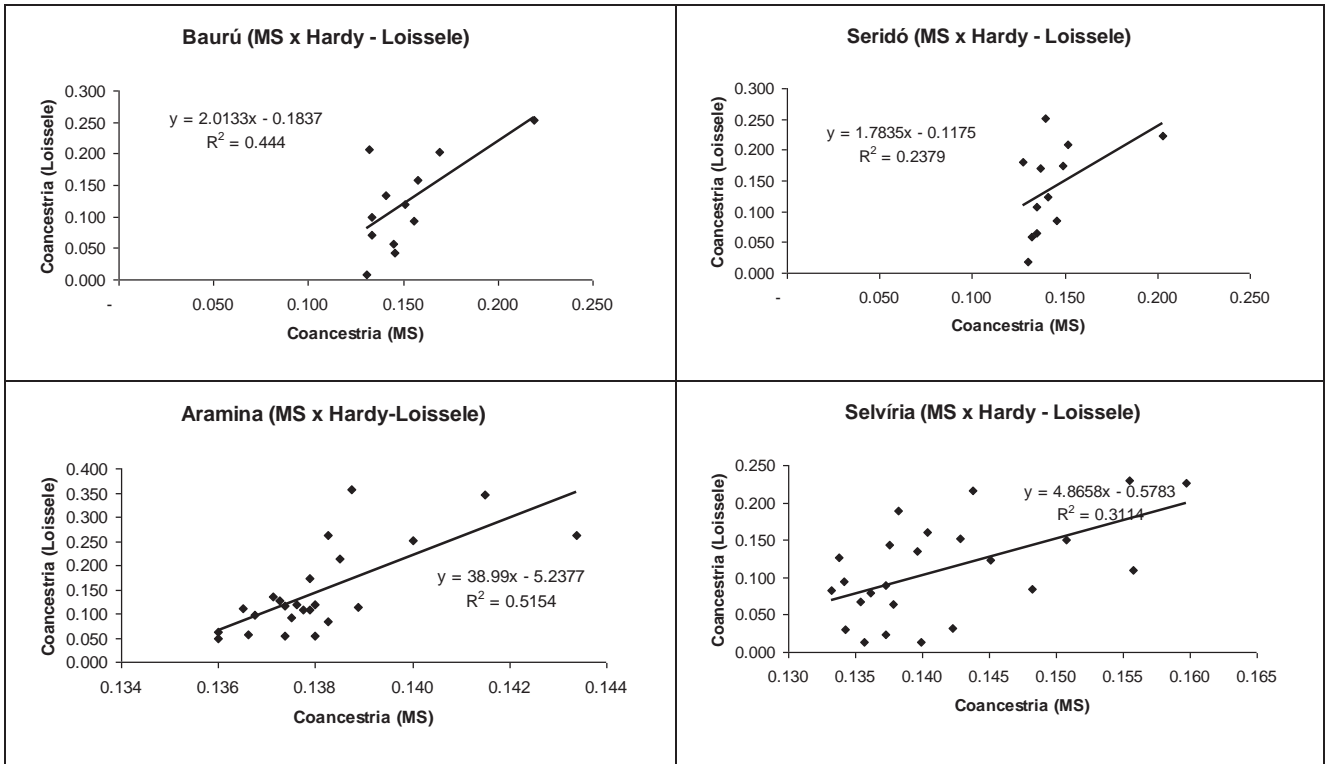
(1995) e Ritland (1996) (Figuras 1 a 5). Em todos os casos os valores foram altamente variáveis entre as quatro populações. As maiores correlações foram observadas entre o método de Ritland (1989) e o método TwoGener (média de $r=0,68$, Figura 1, Tabela 9) e as menores entre o método TwoGener e o de Hardy et al. (2004), utilizando o estimador de Ritland (1996) (média de $r=0,47$, Figura 5, Tabela 9). Isto indica que o método de Ritland (1989) e o método TwoGener estimam valores mais similares entre si, em nível de progênies. Entretanto, considerando a grande variação observada entre populações em todos os casos (Figura 1 a 5, Tabela 9), conclui-se que os resultados obtidos são substancialmente diferentes entre si.

Figura 1 - Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)),



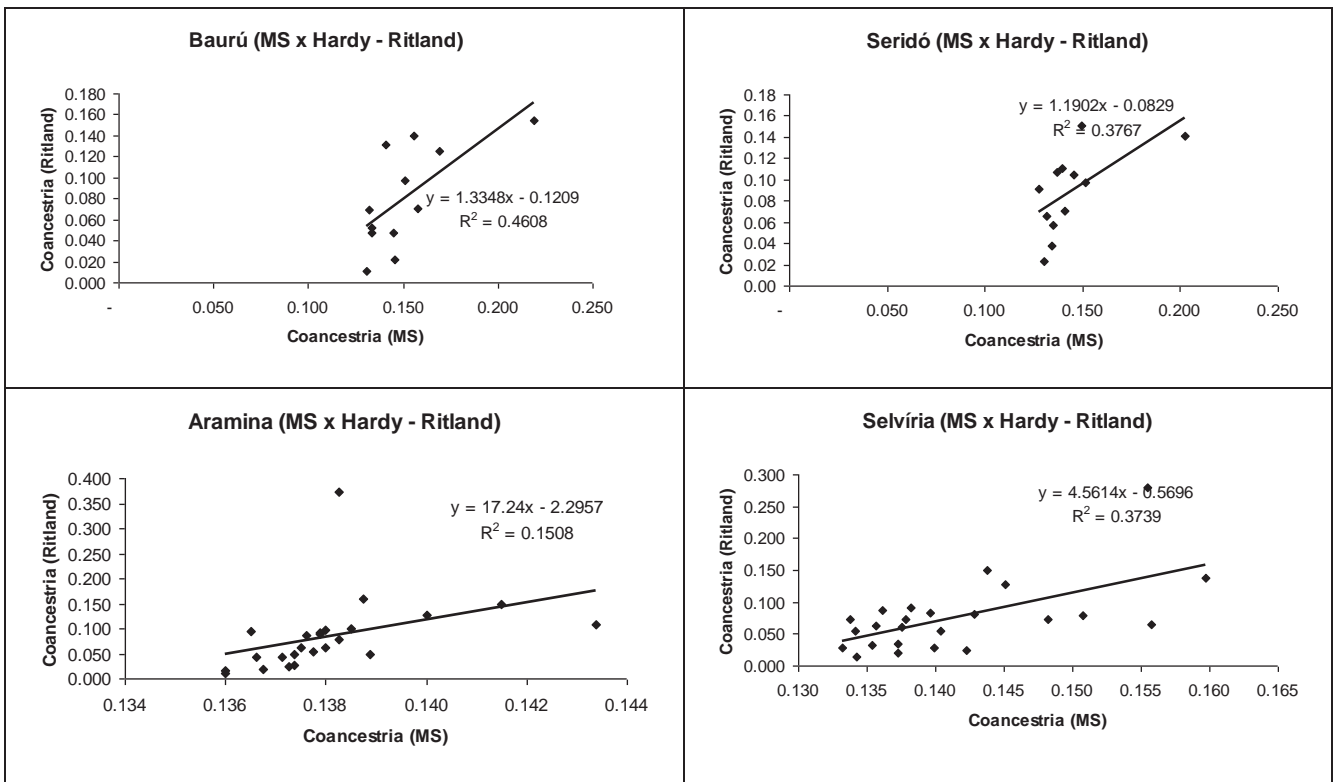
Fonte: Moraes (2012)

Figura 2 - Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria (Loissele)).



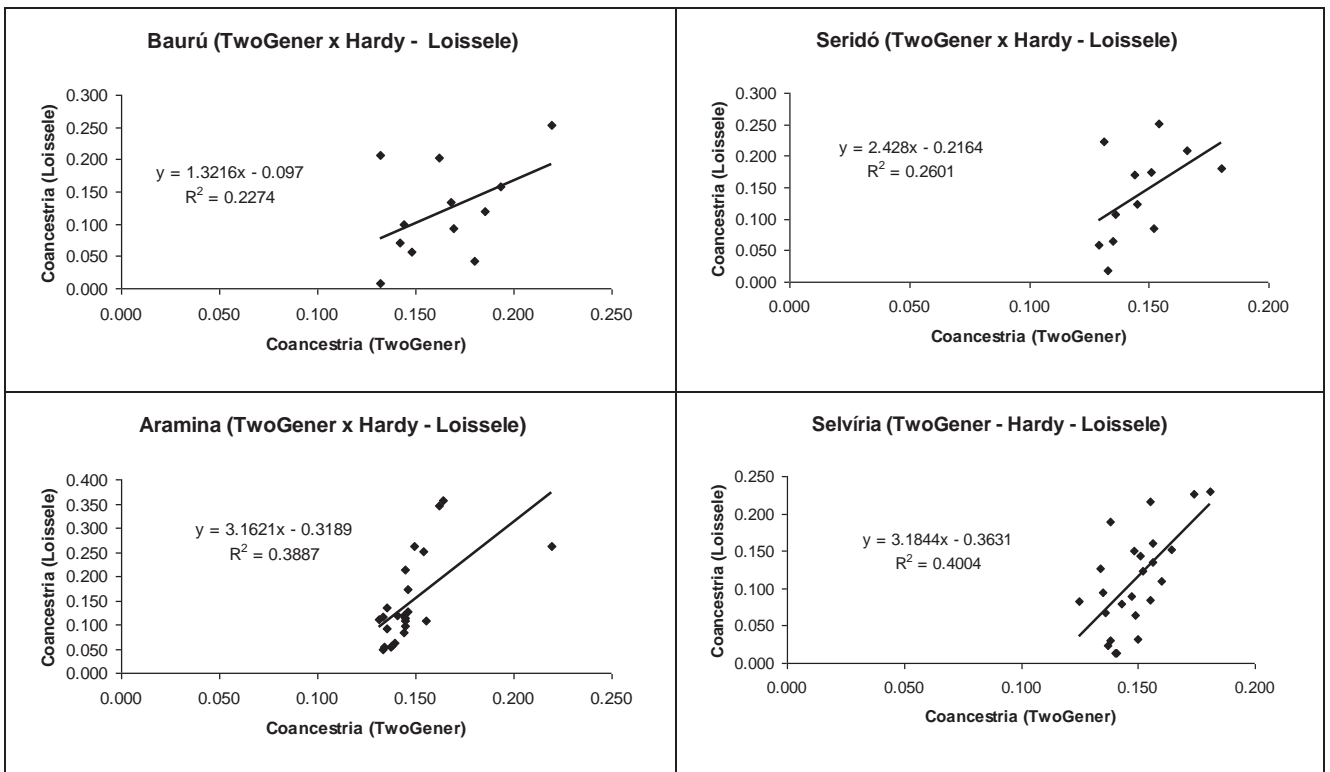
Fonte: Moraes (2012)

Figura 3 - Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada de parâmetros do sistema de reprodução (Coancestria (MS)) e do método de Hardy el al. (2004) (Coancestria(Ritland)).



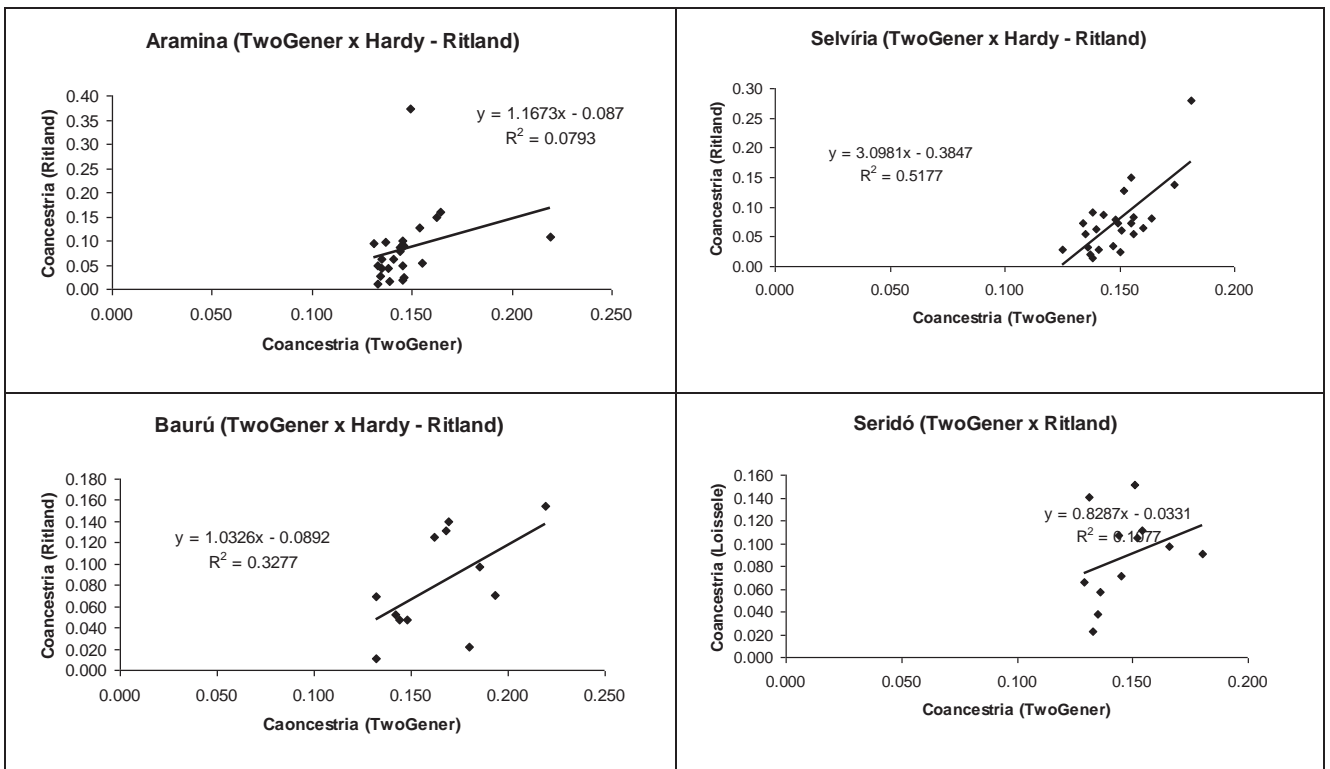
Fonte: Moraes (2012).

Figura 4 - Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)) e do método de Hardy et al. (2004) (Coancestria (Loissele)).



Fonte: Moraes (2012)

Figura 5 - Resultados da regressão linear entre a estimativa do coeficiente de coancestria calculada da análise TwoGener (Coancestria (TwoGener)) e do método de Hardy et al. (2004) (Coancestria (Ritland)).



Fonte: Moraes (2012)

Tabela 9- Resultados das análises de correlações entre os diferentes métodos de estimação do coeficiente de coancestria em quatro populações de *Myracrodruon urundeuva*.

População	Método 1	Método 2	r^2	r
Bauru	Ritland (1989)	TWOGENER	0,6765	0,82 *
Seridó	Ritland (1989)	TWOGENER	0,0410	0,20
Aramina	Ritland (1989)	TWOGENER	0,7376	0,86 *
Selvíria	Ritland (1989)	TWOGENER	0,6923	0,83 *
Média				0,68
Bauru	Ritland (1989)	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,4440	0,67 *
Seridó	Ritland (1989)	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,2379	0,49 *
Aramina	Ritland (1989)	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,5154	0,72 *
Selvíria	Ritland (1989)	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,3114	0,56 *
Média				0,61
Bauru	Ritland (1989)	HARDY (RITLAND, 1996)	0,4608	0,68 *
Seridó	Ritland (1989)	HARDY (RITLAND, 1996)	0,3767	0,61 *
Aramina	Ritland (1989)	HARDY (RITLAND, 1996)	0,1508	0,39
Selvíria	Ritland (1989)	HARDY (RITLAND, 1996)	0,3739	0,61 *
Média				0,57
Bauru	TWOGENER	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,2274	0,48 *
Seridó	TWOGENER	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,2601	0,51 *
Aramina	TWOGENER	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,3887	0,62 *
Selvíria	TWOGENER	HARDY (LOISELLE, et al., 1995)	0,4004	0,63 *
Média				0,56
Bauru	TWOGENER	HARDY (RITLAND, 1996)	0,0793	0,28
Seridó	TWOGENER	HARDY (RITLAND, 1996)	0,5177	0,72 *
Aramina	TWOGENER	HARDY (RITLAND, 1996)	0,3277	0,57 *
Selvíria	TWOGENER	HARDY (RITLAND, 1996)	0,1017	0,32
Média				0,47

*P<0,05.

Fonte: Moraes (2012)

6.7 Tamanho efetivo e número de árvores matrizes para coleta de sementes

O tamanho efetivo de variância mede a representatividade genética de uma população com base na identidade por descendência dos alelos. Em populações perfeitamente panmíticas, quando as progênes são verdadeiros meios-irmãos, o máximo valor que uma progênie pode assumir é 4 ($N_{e(v)}=0,5/0,125$). As estimativas obtidas (Tabela 4) foram logicamente menores do que este valor, variando de 2,76 (Bauru) a 2,96 (Aramina), visto que foram detectados cruzamentos correlacionados e entre indivíduos parentes, como já comentado. Isto implica que no banco de germoplasma formado por estas quatro populações estudadas, o tamanho efetivo total retido é menor do que seria esperado se tais populações tivessem um comportamento reprodutivo panmítico.

Do tamanho efetivo de variância, estimou-se o número de matrizes necessário para a coleta de sementes (Tabela 4), visando reter na amostra o tamanho efetivo de referência de 150, o qual é adequado para a conservação no curto prazo de populações que apresentam sobreposição de gerações como as espécies arbóreas (SEBBENN, 2006). Esta estimativa variou entre as populações de 51 a 54 árvores matrizes (Tabela 4). É importante ressaltar que esta estimativa está considerando que serão coletadas pelo menos 15 sementes de cada matriz. Se um número menor fosse considerado, como por exemplo, a coleta de uma semente por árvore, este tamanho efetivo retido não superaria o número de árvores matrizes em que foram coletadas as sementes, ou seja, o tamanho efetivo retido variaria entre as populações de 51 a 54. Por exemplo, para reforçar a explicação, se apenas uma semente fosse coletada de cada árvore matriz, este tamanho efetivo seria de apenas 51 na população Aramina. Assim, nesse caso seria necessário coletar sementes de 150 árvores matrizes para reter-se o respectivo tamanho efetivo de referência ($N_{e(referência)}$). Por outro lado, com o aumento do número de sementes coletadas por árvores matrizes, este número será reduzido. Por exemplo, se 1000 sementes forem coletadas por árvore, este número vai variar entre as populações de 44 a 47.

O tamanho efetivo estimado pelo método TwoGener foi superior ao estimado pelo método de Ritland (1989), variando de 2,47 (Bauru) a 2,84 (Seridó) e o número de matrizes sugerido para a coleta de sementes visando reter tamanho efetivo de 150, variou de 53 (Seridó e Aramina) a 61 (Bauru). Estes resultados estão próximos dos estimado por Viegas et al. (2011), utilizando o

método de Hardy et al. (2004) nas populações de Aramina ($\hat{N}_{e(v)} = 2,96$ e $\hat{m}_{(150)} = 51$) e Selvíria ($\hat{N}_{e(v)} = 3,04$ e $\hat{m}_{(150)} = 49$), Gaino et al. (2010) também pelo método de (HARDY et al., 2004) numa população de Paulo de Faria-SP, ($\hat{N}_{e(v)} = 6,00$ e $\hat{m}_{(150)} = 48$) e Moraes et al. (2004) (utilizando método de (RITLAND, 1989) na população de Selvíria ($\hat{N}_{e(v)} = 2,21$) e Paulo de Faria ($\hat{N}_{e(v)} = 2,60$). Esses últimos autores sugeriram a coleta de sementes em pelo menos 23 matrizes.

7 CONCLUSÕES

1. A reprodução por cruzamentos foi confirmada na espécie, embora foi detectado também que parte destes cruzamentos são correlacionados e parte ocorre entre indivíduos parentes, ou seja, existem desvios de cruzamentos aleatórios nas populações;
2. O coeficiente de coancestria dentro de progênies é variável entre as populações;
3. Os diferentes métodos de estimação do coeficiente de coancestria produzem valores diferentes entre si, sendo que alguns métodos subestimem o valor mínimo esperado em progênies de polinização aberta (0,125);
4. Os métodos mais adequados para estimar o coeficiente de coancestria dentro de progênies são o de Ritland (1989) e o TwoGener, por sempre apresentarem valores que estão dentro da faixa esperada em progênies de polinização aberta e nunca serem inferiores ao mínimo esperado (0,125) .

8 REFERÊNCIAS

AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P. S. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{ft} , pollen dispersal and inter-female distance. **Genetics**, Bethesda, v. 157, n. 2, p. 851-857, 2002.

BITTENCOURT, J. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil by paternity analysis. **Heredity**, Edinburg, v. 99, n. 6, p. 580-591, 2007. DOI: 0018-067X/07.

BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TWOGENER analysis. **Conservation Genetics**, Dordrecht., v. 9, n. 4, p. 855-868. 2008. DOI: 10.1007/s10592-007-9411-2.

CAETANO, S.; PRADO, D.; PENNINGTON, R. T.; BECK, S.; OLIVEIRA-FILHO, A.; SPICHIGER, R.; NACIRI, Y. The history of seasonally dry tropical forests in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 17, p. 3147-3159, 2008.

CAETANO, S., SILVEIRA, P., SPICHIGER, R.; NACIRI-GRAVEN, Y. Identification of microsatellite markers in a neotropical seasonally dry forest tree, *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, n. 1, p. 21-23, 2005.

CARNEIRO, F.S.; SEBBENN, A.M.; KANASHIRO, M.; DEGEN, B. Low Interannual variation of mating system and Gene Flow of *Symphonia globulifera* in the Brazilian Amazon. **BIOTROPICA**, Hoboken, v. 39, n. 5, p. 628-636, 2007. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2007.00314.x.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA – CNPF, 1994. 640 p.

COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lancaster, v. 23, n. 1, p. 72-84, 1969.

COCKERHAM, C. C.; WEIR, B. S. Covariances of relatives stemming a population undergoing mixed self and random mating. **Biometrics**, Washington, v. 40, n. 1, p. 157-164, 1984.

COSTA, R. B da; RESENDE, M. D. V.; ARAUJO, A. J.; GONÇALVES, P. S.; HIGA, A. R. Selection and genetic gain in rubber tree (*Hevea*) populations using a mixed mating system. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 3, p. 671-679, 2000.

DALE, G.; CHAPARRO, J. Integration of molecular markers into tree breeding and improvement programs. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTUS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMPRAPA/CNPF, 1997. v. 2 p. 80, 1997.

DICK, C. W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. D. R. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 753-764, 2003.

EL MOUSSADIK A; PETIT, R. J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Arginia spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. **Theoretical Applied Genetics**, Heidelberg, v. 92, n. 5-6, p. 832-839, 1996.

FALCONER, D. S; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed.. Essex: Addison Wesley Longman, 1998. p.1-2.

FINKELDEY, R. **An introduction to tropical forest genetics**. Gottingen: Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, 2005. 241p. (Busgenweg 2, D-37077).

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A. de.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 21-28, 2005.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variação genética em progênes de *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão em três sistemas de cultivo. **Revista Árvore**, Viçosa-MG. v. 30, n. 3, p. 319-329, 2006.

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

GAINO, A. P. S.; SILVA, A. M.; MORAES, M. A.; ALVES, P. F.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**. Dordrecht, v. 11, n. 5, p. 1631-1643, 2010. Doi: 10.1007/s10592-010-0046-3.

GAINO, A. P. S.; MORAES, M. L. T.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L. T.; MORAES, M. A.; SILVA, A. M.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Mating system in *Myracrodruon urundeuva* (F. F. & M. F. Allemão - Anarcadiaceae): implications for conservation genetics. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 34, p. 545-551, 2011.

GASPAR, M. J.; DE-LUCAS, A. I.; ALÍA, R.; PAIVA, J. A. P.; HIDALGO, E.; LOUZADA, J.; ALMEIDA, H.; GONZÁLES-MARTÍNEZ, G. Use of molecular markers for estimating breeding parameters: a case study in a *Pinus pinastes* Ait. Progeny trial. **Tree Genetics and Genomics**, v. 5, n. 4, p. 609-616, 2009. Doi: 10.1007/s11295-009-0213-1

GHAI, G. L. Covariances among relatives in populations under mixed self-fertilization and random mating. **Biometrics**, Washington, v. 38, n. 1, p. 87-92, 1982.

GOUDET, J. FSTAT (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate *F*-statistics. **Journal of Heredity**, Edinburg, v. 86, n. 1, p. 485-486, 1995.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess) Miers. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 491-502, 2006.

HARDY, O., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S. C.; COLAS, B.; FRÉVILLE, H. ; MIGNOT, A.; LIVERI, I. Fine-scale genetic structure and gene dispersal in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). II. Correlated paternity within and among sibships. **Genetics**, Bethesda, v. 168, n. 3, p. 1601-1614, 2004.

HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDI: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 618-620, 2002. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00305.x

LACERDA, E. B. L.; KANASHIRO, M.; SEBBENN, A. M. Long-pollen movement and deviation of random mating in a low-density continuous population of *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 40, n. 4, p. 462-470, 2008. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2008.00402.x.

LINDGREN, D.; LUIGI, D. G.; JEFFERSON, P. A. Status number for measuring genetic diversity. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 4, n. 2, p. 69-76, 1997.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**.. Sundeland: Sinauer Associates, 1998. 980p.

LOISELLE, B.A.; SORK, V.L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub. *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**. St. Louis, v. 82, n. 11, p. 1420-1425, 1995.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p.

MELO, J. T.; SILVA, J. A.; TORRES, R. A. A.; SIVEIRA, C. E. S.; CALDAS, L. S. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: Embrapa – CPAC, 1998. p. 196-243.

MILLAR, M. A.; BYRNE, M.; COATES, D. J.; STUKELY, M. J. C.; McCOM, J. A. Matng system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 48, n. 4, p. 475-479, 2000.

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

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. 4, p. 53-59, 2004.

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Diversidade e estrutura espacial em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob diferentes condições antrópicas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 281-289, 2005.

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 74, p. 75-86, 2007.

MORAES, M. L. T.; SEBBENN. Pollen dispersal between isolated trees in the Brazilian savannah: a case study of the Neotropical tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Hoboken, v. 40, n. 4 p. 462-470, 2011.

NAKANISHI, A.; TOMARU, N.; YOSHIMARU, H.; MANABE, T.; YAMAMOTO, S. Effects of seed- and pollen-mediated gene dispersal on genetic structure among *Quercus salicina* samplings. **Heredity**, Edinburg , v. 102, n. 2, p. 182-189, 2009. doi: 10.1038/hdy.2008.101.

NAMKOONG, G. Inbreed effects on estimation of genetic additive variance. **Forest Science**, Madison, v. 12, p. 8-13, 1966.

NUNNEY, L.; CAMPBELL, K.A. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 8, n. 7, p. 234-239, 1993.

OLIVEIRA, P. E. Fenologia e biologia reprodutiva de espécies de Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa – CPAC. , 1998. p. 170-192.

REIS, A. M. M. **Distribuição da variabilidade genética em aroeira (*Myracrodruon urundeuva* – Anacardiaceae) por marcadores RAPD e polimorfismo de seqüência de dpDNA**. 1999. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

REIS, A. M. M.; GRATTAPAGLIA, D. RAPD variation in a germplasm collection of *Myracrodruon urundeuva* (Anarcadiaceae), an endangered tropical tree: recommendations for conservation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 51, n. 5, p. 529-538, 2004.

RESENDE, M. D. V.; VENCovsky, R.; FERNANDES, J. S. C. **Selection and gain in populations of Eucalyptus with a mixed mating system.** In: EUCALYPTUS PLANTATIONS CONFERENCE, 1995, Hobart. **Proceedings...** Hobart: [s.n.], 1995. p. 191-193.

RIBEIRO, J.H. Aroeira: durável além de uma vida. **Globo Rural**, Rio de Janeiro, v. 5, p. 85-90, 1989.

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**, Needham, v. 67, p. 175-185, 1996.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity**, Edinburg , v. 88, n. 4, p. 221-228, 2002.

RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR**: version 3.1. Canada: University of British Columbia,. 2004. Disponível em: <<http://kritland@interchange.ubc.ca>>. Acesso em: 30 out., 2009.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, Edinburg , v. 47, n. 1, p. 35-52, 1981.

RIZZINI, C.T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**: manual de dendrologia brasileira. São Paulo:Bücher e Editora da Universidade de São Paulo, 1971. 294 p.

SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 14, p. 133-145, 1991.

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. 109-124, 2003.

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. D. **Pomares de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 93-138.

SEBBENN, A. M.; CARVALHO, A. C. M.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, S. M. B.; GAINO, A. P. S. C.; SILVA, J. M.; JOLIVET, C.; MORAES, M. L. T. 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**, Edinburg, v. 106, n. 1, p. 134-145, 2011.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; ZANATTO, A. C. E. 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. 15-24, 2000.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S. Estimativa de tamanho efetivo de endogamia usando marcadores genéticos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 1-17, 2005.

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

SILVA, M. B.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; TOMPSON, I.; SEBBENN, A.M. Genetic effects of selective logging and pollen gene flow in a low-density population of the dioecious tropical tree *Bagassa guianensis* in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 255, n. 5-6, p. 1548-1558, 2008.

SMITH, J.M. **Evolutionary genetics**. Oxford: Oxford University, 1999. 328 p.

SMOUSE, P. E., DYER, R. J.; WESTFALL, R. D.; SORK, V.L. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. **Evolution**, Lancaster, v. 55, n. 2, p. 260-271, 2001.

SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 1-3, p. 21-38, 2004.

SOUSA, V. A.; SEBBENN, A. M.; HATTEMER, H.; ZIEHE, M. Correlated mating in populations of a dioecious Brazilian conifer, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 12, n.2, p. 107-119, 2005.

SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, n. 5, p. 149-156, 1974.

VERON, V. H. CARON; B. DEGEN. Gene flow and mating system of the tropical tree *Sextonia rubra*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 54, n. 6, p. 275-280. 2005.

VIEGAS, M. P.; SILVA, C. L. S. P.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L. T.; AZEVEDO, V. C. R.; CIAMPI, A. Y.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* FR. ALL., sob conservação ex situ. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 4, p. 769-779, 2011.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Resources**, Oxford, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, Lancaster, v. 38, n. 6, p. 1358-1370, 1984.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 376p.

WENDT, S. N.; SOUSA, V. A.; QUOIRIN, M.; MAZZA, M. C.; STURION, J. A.; SEBBENN, A. M. Baixa taxa de contaminação de pólen, desvios de cruzamentos aleatórios e endogamia em um pomar de sementes de *Ilex paraguariensis* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 82, p. 185-196, jun. 2009.

ANEXOS

A1- Teste de progênies de *Myracrodruon urundeuva* das populações de Selvíria e Aramina instalados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), em Selvíria – MS



Fonte: Moraes (2011).

A2- Teste de progênies de *Myracrodruon urundeuva* das populações de Bauru e Selvíria instalados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), em Selvíria – MS.



Fonte: Moraes (2011).

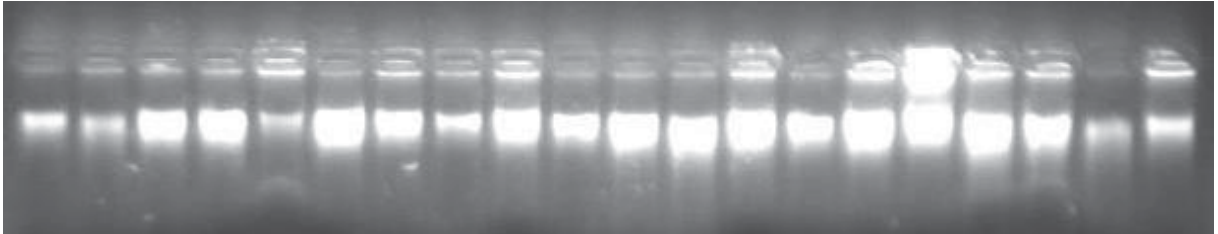
A3- Teste de progênies de *Myracrodruon urundeuva* da população de Seridó instalado na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), em Selvíria – MS.



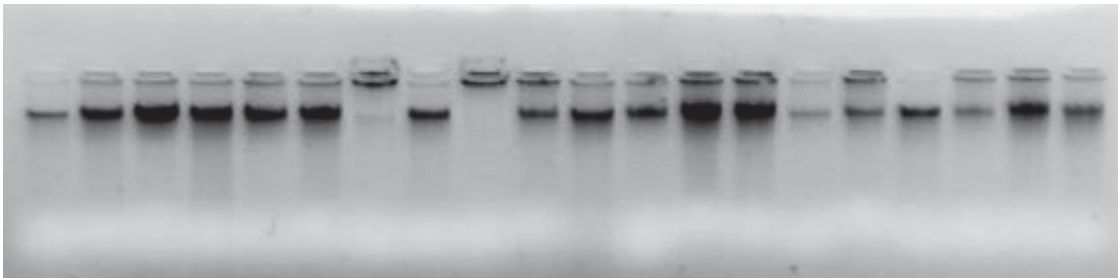
Fonte: Moraes (2011)

A4- Perfis eletroforéticos de algumas amostras de DNAs genômicos extraídos de indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* de progênes das populações provenientes de Aramina-SP, Bauru-SP, Selvíria-MS e Seridó-RN.

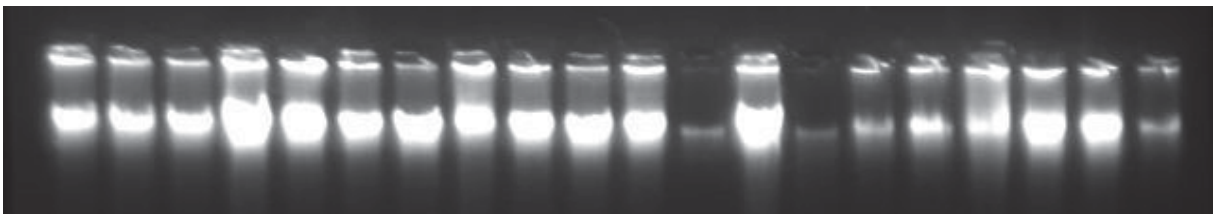
População Aramina



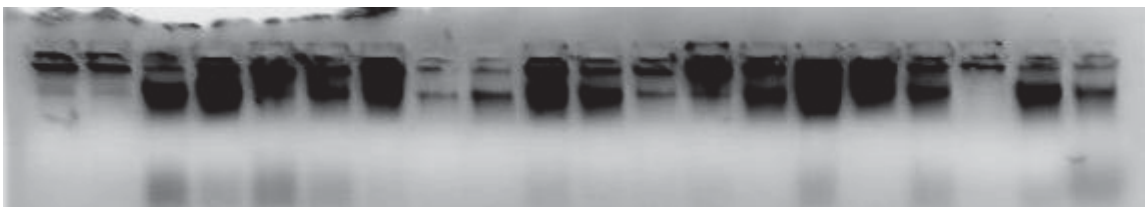
População Bauru



População Selvíria

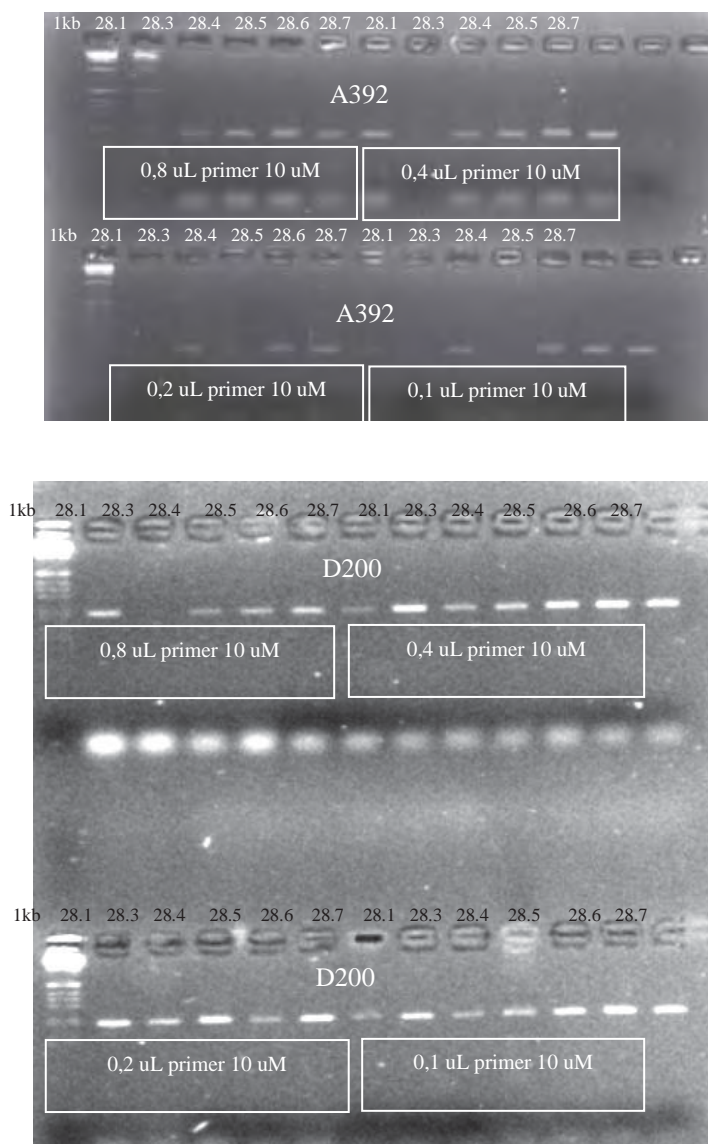


População Seridó



Fonte: Moraes (2010)

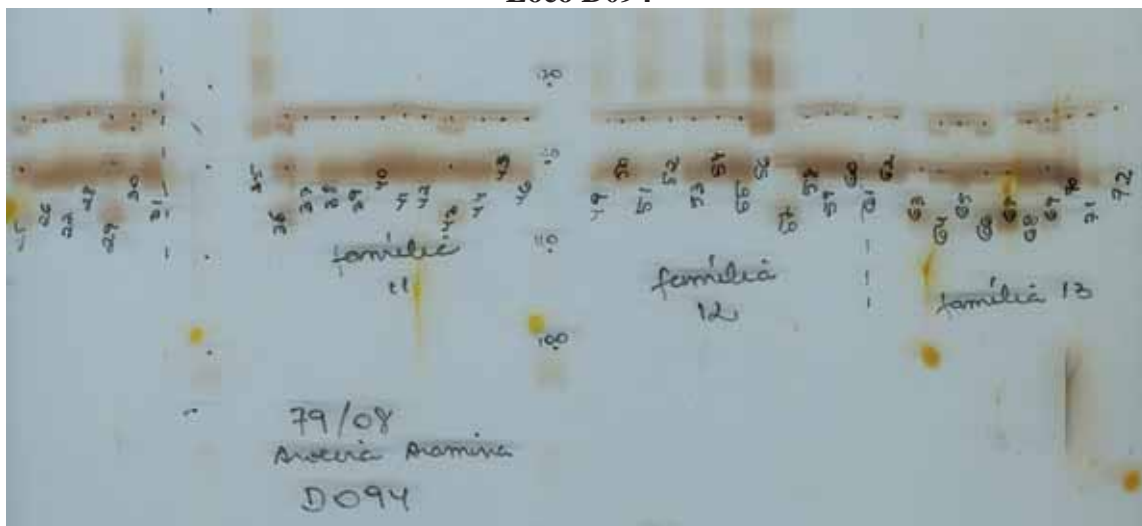
A5-. Perfis eletroforéticos do teste de otimização da concentração dos primers Auru A392 e D200 com DNA genômico de *Myracrodruon urundeuva* da população de Bauru, em PCR-SSR com volume final de 6uL.



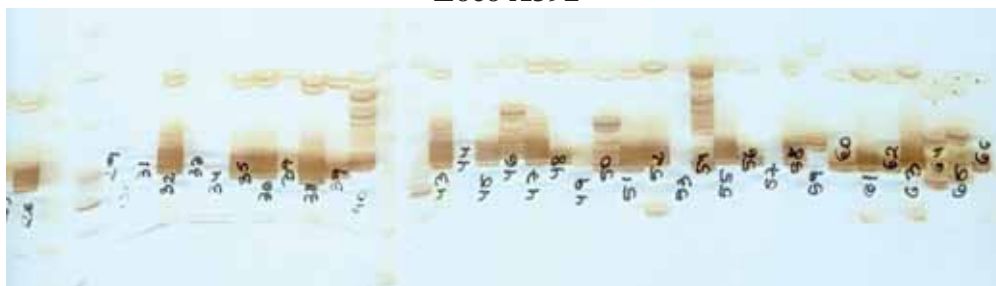
Fonte: Moraes (2010)

A6. Perfis eletroforéticos em poliacrilamida (5%) desnaturante, de amplificação dos locos D094, A392 e C072 de indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* pertencentes ao teste de progênies de matrizes de Aramina – SP.

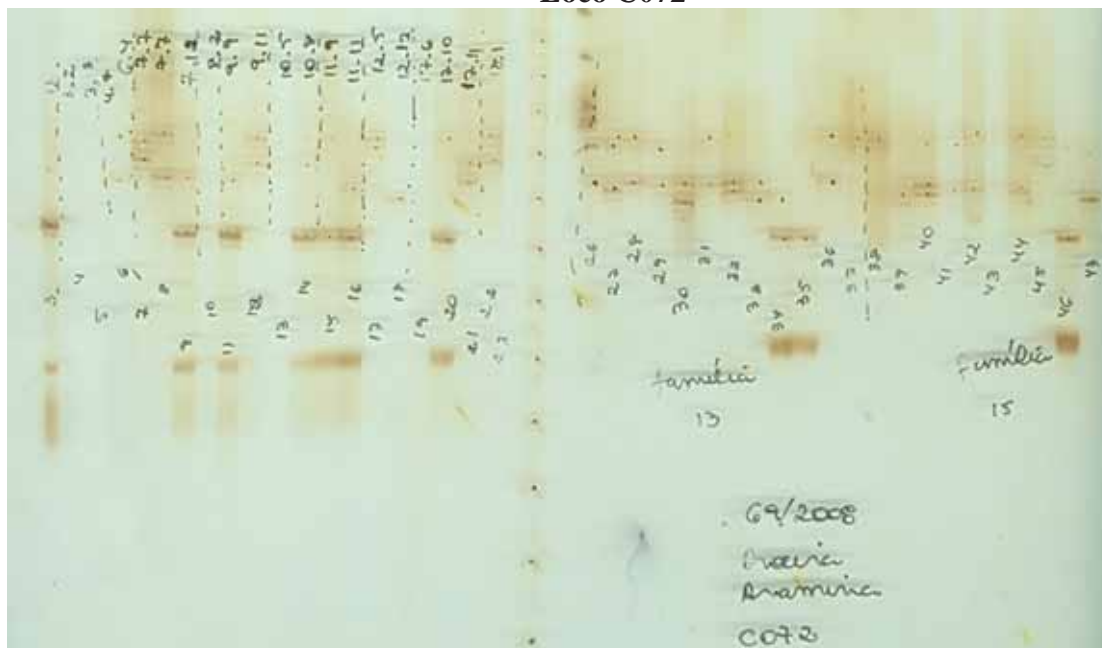
Loco D094



Loco A392



Loco C072



Fonte: Moraes (2010)