



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



DANILLA CRISTINA LEMOS SOUZA

**SISTEMA DE REPRODUÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA
DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão) EM DIFERENTES BIOMAS**

BOTUCATU

2017

DANILLA CRISTINA LEMOS SOUZA

**SISTEMA DE REPRODUÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA
DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão) EM DIFERENTES BIOMAS**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP
Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutora em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes

Coorientador: Prof. Dr. Celso Luís Marino

BOTUCATU

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S729s Souza, Danilla Cristina Lemos, 1985-
Sistema de reprodução e distribuição da variabilidade genética de *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão) em diferentes biomas / Danilla Cristina Lemos Souza. - Botucatu : [s.n.], 2017
126 p. : fots. color., grafs. color., ils. color., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Mario Luiz Teixeira de Moraes
Coorientador: Celso Luís Marino
Inclui bibliografia

1. Aroeira do sertão - Melhoramento genético. 2. Microsatelites (Genética). 3. Testes de progênie. I. Moraes, Mario Luiz Teixeira de. II. Marino, Celso Luís. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SISTEMA DE REPRODUÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão) EM DIFERENTES BIOMAS

AUTORA: DANILLA CRISTINA LEMOS SOUZA

ORIENTADOR: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

COORDINADOR: CELSO LUIS MARINO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA FLORESTAL, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP



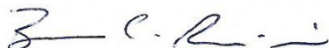
Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN

Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo / Instituto Florestal de São Paulo - IFSP



Dr. LEO ZIMBACK

Floresta Estadual de Botucatu / Instituto Florestal do Estado de São Paulo



Prof. Dr. BRUNO CESAR ROSSINI

Departamento de Genética / Instituto de Biociências de Botucatu



Prof. Dr. EVANDRO VAGNER TAMBARUSSI

Departamento de Engenharia Florestal / Universidade Estadual do Centro-Oeste

Botucatu, 16 de fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as oportunidades colocadas em minha vida e por me fazer tão forte nos momentos difíceis. E agradeço também por me presentear com pessoas maravilhosas...

Agradeço aos meus pais, Eduardo e Lygia, por todo incentivo, dedicação e amor incondicional a mim concedidos, impulsionando-me na conquista de mais um degrau dessa incessante escalada.

À minha irmã, Daniella, e à minha afilhada, Maria Luiza, pelo carinho, apoio e momentos de alegria e descontração.

Ao meu amor, Vinícius Santana, por toda compreensão e confiança. Por estar tão perto, mesmo eu estando tão longe. Por me fazer acreditar sempre em mim e por me fazer uma pessoa melhor a cada dia.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu/FCA-UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Florestal pela oportunidade de realização do doutorado. Em especial, agradeço à Taynan, pela competência, doçura e paciência em seus atendimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pela concessão da bolsa de estudos (Processo 2013/24503-1) e por oferecer todo suporte e condições necessárias para a realização desse trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Mario Moraes, a quem tenho grande admiração, por ser exemplo de educação e ética profissional. Obrigada por toda confiança e por cada conhecimento que eu pude adquirir com sua orientação.

Ao meu coorientador, Prof. Celso Marino, e ao Dr. Bruno Rossini pelo acolhimento, apoio e grandiosa contribuição na execução desse trabalho.

Ao pesquisador Alexandre Sebbenn pela gama de ensinamentos transmitidos, pelas horas de trabalho a mim dedicadas, pelos conselhos e estímulo na profissão e, principalmente, por ser uma fonte de inspiração na pesquisa.

À Selma Moraes pelo acolhimento, amizade e carinho que me ofereceu durante o período acadêmico.

À amiga Marília Melo, com quem dividi angústias e felicidades. Sua presença e amizade tornaram essa jornada muito mais leve... Obrigada por fazer parte do meu dia a dia.

Aos amigos que formei desde o primeiro momento, José Cambuim e Darlin Zaruma, por toda palavra de apoio e carinho, pelo companheirismo, ensinamentos, auxílio no trabalho... Enfim, obrigada por serem tão presentes e prestativos!

Às amigas que Ilha Solteira me deu: Thays Abreu, Kelly Cristina e Francine Souza. A amizade e convivência com vocês foram e são muito importantes em minha vida. Obrigada por me fazerem sentir sempre em casa!

À melhor equipe de amigos/trabalho: Wanderley, Fran, Kelly, Jana, Angélica, Paty, Thaisa, Jhenifer, Marília, Marcela, Vanessa, Alexandre, Walter, Maiarina, Ricardo, Cambuim, Darlin, Dani e Silvelise. Obrigada pelo apoio e dedicação durante a execução da pesquisa, tornando os momentos tensos em momentos tão agradáveis. Saibam que fui muito feliz com vocês...

Aos docentes e funcionários da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS - UNESP pelos conhecimentos transmitidos e afeto, mesmo que em breve convívio.

Aos amigos do vôlei, Luan, Eduardo, Muriel, Lucas, Vini, Fernando e Rodolfo, que tanto me ajudaram a suportar a distância com amizade, companheirismo, atenção, divertimento... Agradeço de coração!

Às amigas de Valparaíso, Salvadorrr, Brasil e Suh, por me deixarem fazer parte de suas vidas e por fazerem parte da minha. Pelo simples fato da amizade de vocês tornar-me uma pessoa melhor!

Enfim, a todos que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

O MEU ETERNO MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Myracrodruon urundeuva (Anacardiaceae) é uma espécie arbórea de ampla distribuição geográfica. Por possuir madeira de reconhecido valor econômico, associada à alta taxa de fragmentação dos seus habitats, encontra-se ameaçada de extinção. Com o intuito de manter a variabilidade genética existente das populações fragmentadas e reduzir perdas na base genética da espécie, sementes de polinização aberta de *M. urundeuva* foram coletadas em diferentes regiões, no Brasil, para formação do banco de conservação *ex situ* da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, em Selvíria-MS. Esse trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar o sistema de reprodução e estimar parâmetros genéticos populacionais em progênies de *M. urundeuva*, procedentes de diferentes biomas brasileiros, por meio de caracteres quantitativos de crescimento e marcadores moleculares do tipo microssatélites. Os caracteres altura, diâmetro a altura do peito (DAP), diâmetro médio de copa e sobrevivência (SOB) foram utilizados para avaliar cinco populações: Aquidauana-MS, Selvíria-MS, Itarumã-GO, Paulo de Faria-SP e Seridó-RN. Os valores altos a medianos observados para SOB (96,4% - 70,8%) indicam boa adaptação das populações de *M. urundeuva* e potencial para uso em reflorestamentos. As estimativas do coeficiente de variação genética oscilaram de 3% a 24,6%, em nível de indivíduo, e de 1,5% a 12,3%, entre progênies, com os maiores valores obtidos para o DAP da população de Seridó. As herdabilidades individuais variaram de moderada (0,41) a baixa (0,01) para os caracteres apresentados. Empregando-se o valor genético dos indivíduos, o DAP foi utilizado para estimar ganhos genéticos na seleção de indivíduos dentro de progênies, sendo a população de Itarumã a mais indicada ao melhoramento genético, no referido ano de avaliação destas populações (população de Itarumã aos 11 anos de idade). Para análise molecular, 20 locos microssatélites foram desenvolvidos, a partir do sequenciamento de nova geração (MiSeq Sequencing System, Illumina), e seis desses foram utilizados para caracterizar as populações de Aquidauana, Itarumã, Paulo de Faria e Seridó (1.224 indivíduos). O número total de alelos (215), o número de diferentes alelos (67) e os valores de heterozigosidades observados demonstraram que estas populações ainda conservam índices de diversidade genética consideravelmente altos. Foi detectada alta diferenciação genética entre as

populações (33%), relacionada, em partes, à distância que as separam; e foi confirmado que a espécie dioica *M. urundeuva* reproduz-se por cruzamento. Estes cruzamentos não são aleatórios nas populações, com aumento do grau de parentesco nas populações que sofreram forte pressão antrópica. Os coeficientes de coancestria dentro de progênies foram superiores ao esperado em progênies de meios-irmãos (0,125), portanto, estas progênies são constituídas também de irmãos-completos. Visando à utilização em reflorestamentos, estratégias de coleta de sementes devem ser adotadas, de modo a evitar a obtenção de sementes advindas de cruzamentos correlacionados ou endogâmicos, estabelecendo-se o valor mínimo de coleta em 55 árvores matrizes, em cada população, de modo a garantir um tamanho efetivo de população de 150. As informações obtidas com este estudo são úteis para fins de conservação e melhoramento genético da espécie, como também para seleção de matrizes potenciais para recuperação ambiental.

Palavras-chave: Aroeira, Caracteres quantitativos; Conservação genética; Marcadores microssatélites; Melhoramento genético.

ABSTRACT

Myracrodruon urundeuva (Anacardiaceae) is a tree species with a wide geographic distribution. Because it has wood of recognized economic value, associated with the high rate of fragmentation of its habitats, it is threatened with extinction. In order to maintain the existing genetic variability of the fragmented populations and reduce losses in the genetic base of the species, *M. urundeuva* seeds were collected in different regions in Brazil for the formation of the *ex situ* conservation bank of the Faculty of Engineering of Ilha Solteira (FEIS/UNESP), in Selvíria-MS. This work was conducted with the aims to characterize the mating system and estimate population genetic parameters in *M. urundeuva* offsprings from different Brazilian biomes, using quantitative growth traits and molecular markers of the microsatellite type. The height, diameter at breast height (DBH), mean crown diameter and survival were used to evaluate five populations: Aquidauana-MS, Selvíria-MS, Itarumã-GO, Paulo de Faria -SP and Seridó-RN. The values high to median observed for survival (96.4% - 70.8%) indicate good adaptation of populations of *M. urundeuva* and potential for use in reforestation. Estimates of the coefficient of genetic variation ranged from 3% to 24.6%, at the individual level, and from 1.5% to 12.3%, among progenies, with the highest values obtained for the DBH of the Seridó population. The individual heritabilities ranged from moderate (0.41) to low (0.01) for the characters. Using the genetic value of the individuals, DBH was used to estimate genetic gains in the selection of individuals within progenies, and the Itarumã population being the most indicated for breeding, in the said year of evaluation of these populations (Itarumã population at 11 years old). For molecular analysis, 20 microsatellite loci were developed from the new generation sequencing (MiSeq Sequencing System, Illumina), and six of these were used to characterize the populations of Aquidauana, Itarumã, Paulo de Faria and Seridó (1,224 individuals). The total number of alleles (215), the number of different alleles (67) and the observed heterozygosity values demonstrated that these populations still retain considerably high genetic diversity indices. High genetic differentiation was detected among populations (33%), related, in part, the distance separating them; and it was observed that the species dioica *M. urundeuva* is reproduced by mating. These matings are not random in populations, with increased degree of relationship in populations with strong anthropic pressure.

The coancestry coefficients within offspring were higher than expected in half-sibs offsprings (0.125), so these offsprings are also composed of full-sibs. Aiming at the use in reforestation, seed collection strategies should be adopted, in order to avoid obtaining seeds produced from related or inbred matings, establishing the minimum collection amount in 55 seed trees, in each population, so to ensure an effective population size of 150. The informations obtained from this study are useful for the purpose of conservation and breeding of the species, but also for selection of potential matrices for environmental recovery.

Keywords: Aroeira; Genetic conservation; Genetic improvement; Microsatellite markers; Quantitative traits.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO GERAL.....	15
REVISÃO DE LITERATURA.....	16
Biomias brasileiros de ocorrência natural de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	16
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	18
Conservação e melhoramento genético de espécies florestais.....	20
Estudos genéticos em espécies florestais.....	21
Sistema de reprodução em espécies florestais.....	26
CAPÍTULO 1 - DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> (F.F. & M.F. ALLEMÃO) EM DIFERENTES BIOMAS.....	28
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	30
1.1 INTRODUÇÃO.....	31
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
1.2.1 Amostragem e caracteres avaliados.....	32
1.2.2 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos	35
1.2.3 Estimativas de ganhos na seleção.....	36
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
1.4 CONCLUSÕES.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA <i>Myracrodruon urundeuva</i> (F.F. & M.F. ALLEMÃO), UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO DAS FLORESTAS TROPICAIS, BASEADO EM SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO.....	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
2.1 INTRODUÇÃO.....	56
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57

2.2.1	Amostragem e extração de DNA.....	57
	Identificação, desenho dos <i>primers</i> e validação dos locos	
2.2.2	microssatélites	57
2.2.3	Análise dos dados.....	58
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS.....	61

CAPÍTULO 3 - DIVERSIDADE GENÉTICA, SISTEMA DE REPRODUÇÃO E COANCESTRIA EM POPULAÇÕES FRAGMENTADAS DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. ALLEMÃO) DE DIFERENTES BIOMAS.....

	RESUMO.....	63
	ABSTRACT.....	65
3.1	INTRODUÇÃO.....	66
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
3.2.1	Amostragem e isolamento de DNA genômico.....	67
3.2.2	Reações de amplificação de locos microssatélites e genotipagem	69
3.2.3	Análise dos dados.....	70
3.2.3.1	Diversidade genética e índice de fixação.....	70
3.2.3.2	Estrutura genética.....	70
3.2.3.3	Sistema de reprodução.....	71
3.2.3.4	Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes.....	71
3.3	RESULTADOS.....	72
3.3.1	Diversidade genética e índice de fixação.....	72
3.3.2	Estrutura genética.....	76
3.3.3	Sistema de reprodução.....	77
3.3.4	Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes.....	77
3.4	DISCUSSÃO.....	79
3.4.1	Diversidade genética e índice de fixação.....	79
3.4.2	Estrutura genética.....	81
3.4.3	Sistema de reprodução.....	82

3.4.4	Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes.....	84
3.5	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
	REFERÊNCIAS.....	92

INTRODUÇÃO GERAL

A maior biodiversidade do mundo, contida em um país, é representada pela presença de um número de *habitats* diferentes, denominados biomas (VILLAS BÔAS; GADELHA, 2007). A vegetação é um dos componentes mais importantes dos biomas, na medida em que seu estado de conservação e de continuidade definem a existência ou não de *habitats* (MMA, 2015a).

Com o desmatamento acelerado que tem ocorrido, especialmente nos trópicos, espécies florestais de larga distribuição geográfica vêm sofrendo deterioração da sua base genética. Essas perdas comprometem a riqueza genética dos biomas e o potencial evolutivo das espécies, pois reduz a capacidade das populações de se adaptarem às mudanças ambientais. Populações naturais de *Myracrodruon urundeuva*, espécie arbórea encontrada nos biomas brasileiros Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga e Pantanal (CARVALHO, 1994), e áreas de transição, foram drasticamente reduzidas, em decorrência do avanço das fronteiras agrícolas e do processo de urbanização, e da exploração indiscriminada de seus indivíduos para produção de madeira, o que implica a necessidade de práticas e estudos de conservação genética para a espécie.

A utilização de métodos *in situ* pode contribuir satisfatoriamente para a conservação genética das espécies, porém, está longe de suprir todas as necessidades. Associar formas de conservação *in situ* e *ex situ*, para uma espécie em extinção, é uma ferramenta relativamente segura contra perdas de alelos, uma vez que, por meio da conservação *ex situ*, é possível manter os níveis de variabilidade genética das populações naturais. Estudos genotípicos e fenotípicos, por meio de marcadores moleculares e caracteres quantitativos de crescimento, são formas apropriadas para quantificar a variabilidade genética de uma espécie, desde que as sementes colhidas de indivíduos e/ou populações representativas sejam testadas em condições de campo, a partir de delineamentos experimentais adequados, como é o caso dos ensaios de progênies (KAGEYAMA; DIAS, 1985).

Os testes de progênies, além de empregados para a conservação genética, podem também servir para fins de melhoramento ou produção de sementes com ampla base genética para a recuperação ambiental. Esse método, utilizado em espécies arbóreas nativas, constitui-se na principal estratégia do Instituto Florestal

de São Paulo, que, desde o fim da década de 1970, implantou diversos experimentos para estas finalidades (SEBBENN et al., 2009).

Visando fornecer subsídios para a conservação *ex situ* e para programas de melhoramento genético de *M. urundeuva*, este trabalho teve como objetivos:

- a) Desenvolver locos microssatélites para *M. urundeuva*;
- b) Quantificar a diversidade genética das populações de estudo, por meio de locos microssatélites e caracteres quantitativos de crescimento;
- c) Estudar a estrutura genética e o sistema reprodutivo nas populações de *M. urundeuva*, com base em parâmetros obtidos na análise molecular por locos microssatélites;
- d) Avaliar a representatividade das populações de estudo, fundamentando-se no tamanho efetivo populacional;
- e) Estimar possíveis ganhos na seleção a partir da utilização do Índice Multi-efeitos, visando à transformação dos testes de progênies em futuros pomares de sementes por mudas (PMS);
- f) Estabelecer, em cada população, o número mínimo de árvores-matriz para coleta de sementes destinadas a reflorestamentos, de modo a garantir um tamanho efetivo de população de 150.

REVISÃO DE LITERATURA

Biomass brasileiros de ocorrência natural de *Myracrodruon urundeuva*

O Brasil possui quase um terço da flora mundial representada em seis biomas: Amazônia, Pantanal, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica e Pampa (VILLAS BÔAS; GADELHA, 2007). A diversidade e riqueza de espécies dos biomas está relacionada à adaptação das plantas ao ambiente (HOFFMANN; FRANCO, 2008). Uma espécie arbórea pode ocorrer em diferentes condições edafoclimáticas, como é o caso de *M. urundeuva*, encontrada nos biomas brasileiros Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga e Pantanal (CARVALHO, 1994).

Considerado como um *hotspots* mundial de biodiversidade, o bioma Cerrado apresenta extrema diversidade e abundância de espécies endêmicas (MMA, 2015b). A região de Cerrado, no Brasil, ocupa a porção central e é caracterizada por um

mosaico de vegetação de savana e floresta (HOFFMANN; FRANCO, 2008). As savanas são classificadas de acordo com a densidade de árvores: campos limpos, campos sujos, cerrado e cerrado sentido restrito. As formações florestais incluem matas ciliares e uma diversidade de florestas de terra firme (cerradão) (COUTINHO, 1978; RIBEIRO; WALTER, 2001). Em relação às savanas, os solos florestais tendem a possuir maior disponibilidade de nutrientes (SILVA et al, 2008), e, da mesma forma, estão associados com maior disponibilidade de água (HOFFMANN; FRANCO, 2008). Genericamente, é um bioma de clima tropical semi-úmido, com estações bem definidas de seca (inverno) e chuvas (verão), e suas áreas de abrangência não ultrapassam altitudes de 500 m (grandes áreas encontram-se abaixo de 350 m), sendo fortemente ensolaradas (HUECK, 1972).

O bioma Mata Atlântica também é considerado um *hotspots* para a conservação da biodiversidade, concentrando os mais altos níveis de biodiversidade e é onde as ações de conservação são mais urgentes, pois apresenta ameaça de mais alto grau (MYERS et al., 2000). Mesmo reduzida e muito fragmentada, estima-se que na Mata Atlântica existam cerca de 20.000 espécies vegetais (cerca de 35% das espécies existentes no Brasil), incluindo diversas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (MMA, 2015b). Esse bioma estende-se por 17 Estados brasileiros e é formado por um conjunto de formações florestais (Florestas: Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta) e ecossistemas associados como as restingas, manguezais e campos de altitude (MMA, 2015b). O solo da Mata Atlântica varia em pequenas distâncias e suas características, inclusive as topográficas, podem originar padrões de disponibilidade de recursos, como radiação solar direta, água e nutrientes, o que influencia na sua biodiversidade (RESENDE et al., 2002).

O bioma Caatinga abrange a região nordeste do Brasil e o norte do Estado de Minas Gerais (MMA, 2015b). A maior parte da região de domínio desse bioma forma uma unidade bem definida e delimitada, com uma vegetação de mata seca, aberta, decídua, verde na estação de chuva, formada por árvores baixas e médias e arbustos espinhosos, em solos arenosos que se alternam com áreas pedregosas (HUECK, 1972). Apresenta temperaturas médias anuais em torno de 26 °C, com pequena variação durante o ano. A intensa seca (poucas chuvas, com distribuição irregular durante o ano e ausente no inverno) que assola a região é o principal fator para quase todas as características desse Bioma (HUECK, 1972).

No Brasil, o bioma Pantanal ocupa os Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. É considerado uma das maiores planícies aluviais contínuas do planeta, composta por um mosaico de habitats, com predomínio de vegetação não florestal, principalmente, as savanas úmidas. Os tipos de vegetação florestais (Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Estacional Decidual) representam apenas 5% do Bioma (MMA, 2015b). A região está sujeita a, enchentes anuais de verão, durante o qual a maior parte do Pantanal fica inundada (ADAMOLI, 1987). A precipitação média anual das regiões de ocorrência do Pantanal é em torno de 1.300 mm, sendo que a quantidade de água não deve ser considerada como um fator inibidor do desenvolvimento de matas, mas sim a constituição física dos solos (má-drenagem) (HUECK, 1972).

Myracrodruon urundeuva

Myracrodruon urundeuva (F.F. & M.F. Allemão), popularmente conhecida como aroeira e aroeira-do-sertão, é uma Anarcadiaceae pertencente ao grupo ecológico das secundárias tardias (FERRETTI et al., 1995), podendo também ser classificada como secundária/pioneira antrópica (secundárias nas florestas primárias, mas que fazem o papel de pioneiras em áreas antrópicas) (KAGEYAMA et al., 1994). É uma espécie arbórea, decídua, heliófita e seletiva xerófita, característica de terrenos secos e rochosos (LORENZI, 2008), que pode atingir até 30 m de altura e 100 cm de diâmetro a altura do peito (NOGUEIRA, 2010) (Figura 1).

Figura 1 – Indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* estabelecidos sob a forma de teste de progênies, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Selvíria-MS



Essa espécie é encontrada em diferentes formações florestais: Floresta Estacional Semidecidual; Floresta Estacional Decidual; Cerrado e Cerradão; Caatinga; Chaco Sul-mato-grossense e Pantanal Mato-grossense (CARVALHO, 1994). Seu limite de distribuição natural estende-se pelas Regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste do Brasil até a região chaquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina (CARVALHO, 1994; LORENZI, 2008; NOGUEIRA, 2010), apresentando-se de forma agrupada (LORENZI, 2008). No Brasil, ocorre desde o estado do Ceará até o estado do Paraná e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2008), entretanto grande parte desta área encontra-se fragmentada. Como consequência, *M. urundeuva* atualmente é pouco observada na região Centro-Sul do Brasil, especialmente no Estado de São Paulo, onde não mais se apresenta em grandes proporções em seu estado silvestre, exceto em reservas estaduais e particulares (MORAES et al., 2005).

Myracrodruon urundeuva é uma espécie dioica. Suas sementes são originadas por cruzamentos, com polinização realizada, principalmente, por abelhas, e a

dispersão dos diásporos é anemocórica (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Seus frutos são do tipo drupa globosa ou ovóide, com cálice persistente, considerado um fruto-semente (FELICIANO et al., 2008). A semente é única, desprovida de endosperma, possui comportamento ortodoxo (MEDEIROS, 1996) e não apresenta dormência (NUNES et al., 2008). A espécie apresenta fenofases reprodutiva e vegetativa influenciadas pelas variáveis ambientais de precipitação e temperatura. Na estação seca, ocorre floração, frutificação e queda foliar, e a estação chuvosa favorece o brotamento da espécie (NUNES et al., 2008).

Sua madeira, considerada a mais resistente do Brasil, em função da durabilidade e dificuldade de putrefação, é muito usada para obras externas, como postes, moirões ou dormentes para cercas, na construção civil, como caibros e vigas, e na confecção de móveis de luxo e adornos torneados (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 2008). Flörsheim; Tomazello Filho (1994) relatam a possibilidade de se obter tais características de valor econômico da madeira a partir de árvores de *M. urundeuva* provenientes de plantações, uma vez que apresentam características similares as das madeiras de árvores de populações naturais.

Essa espécie apresenta também amplo uso farmacológico. Citações sobre os usos medicinais desta planta, incluem, em geral, ação anti-inflamatória e propriedades curativas (LUCENA et al., 2008; RAMOS et al., 2008; ROQUE et al., 2010; SILVA et al., 2012; MONTEIRO et al., 2014; VIANA et al., 2014).

Conservação e melhoramento genético de espécies florestais

Durante o processo de ocupação do Brasil, houve destruição dos recursos naturais, particularmente das florestas. Ao longo da história, a cobertura florestal nativa, representada pelos diferentes biomas, foi sendo fragmentada, cedendo espaço para culturas agrícolas, pastagens e cidades (TUNG et al., 2010). Aliado a este fato tem ocorrido uma crescente demanda por matéria prima florestal, seja ela destinada à energia, construções rurais ou para outras aplicações. Esses fatores tem provocado uma exploração predatória, resultando no desaparecimento desenfreado de maciços florestais, e na extinção de espécies florestais de importante valor econômico e ecológico (GUERRA et al., 2009).

Quando a floresta se torna fragmentada ocorre diminuição no tamanho das populações e, conseqüentemente, na sua diversidade genética e no potencial adaptativo das populações arbóreas ali presentes, tornando-as, com este isolamento, significativamente mais vulneráveis a eventos ambientais, demográficos e genéticos (VIEGAS et al., 2011; BATISTA et al., 2012). Dessa forma, a existência de ampla variabilidade genética é um fator fundamental para que ocorra adaptação, evolução e sobrevivência de populações arbóreas (REIS et al., 2009), bem como para o delineamento de programas de conservação e melhoramento genético.

A definição desses programas com populações arbóreas requer o conhecimento de padrões ecológicos e genéticos das espécies (REIS et al., 2009). Para que as estratégias sejam efetivas, cada espécie deve estar representada por populações viáveis e isso depende da existência de variabilidade genética (SHIMIZU, 2007). Assim, é fundamental entender e quantificar os principais efeitos populacionais e genéticos da fragmentação e da exploração de espécies nativas de valor econômico (VIEIRA e CARVALHO, 2008; MARTINS et al., 2008; MOURA et al., 2011).

Para maior garantia da sobrevivência de populações de espécies florestais que estão sendo fragmentadas, é necessária a conservação *ex situ* da sua variabilidade genética. Desse modo, é possível manter amostras representativas de populações para que, após caracterizadas, avaliadas e multiplicadas, estejam disponíveis para o melhoramento genético e/ou pesquisas correlatas (LLERAS, 1992; VALOIS et al., 2001). A obtenção de populações melhoradas que satisfaçam as exigências da produtividade florestal depende da capacidade de identificar genótipos superiores na população a ser selecionada. Uma estratégia de eficiência comprovada para seleção desses genótipos é a utilização de testes de progênies, que permitem a determinação do valor reprodutivo dos indivíduos selecionados, da estimativa de parâmetros genéticos, da estrutura genética e seleção, orientando decisões práticas no programa de melhoramento (SAMPAIO et al., 2000; AGUIAR, 2004; KUBOTA et al., 2015).

Estudos genéticos em espécies florestais

Diante do real risco de perda de variabilidade genética nas populações naturais, há necessidade em se conhecer melhor as espécies florestais quanto aos

parâmetros genéticos relacionados à variabilidade e estrutura genética, sistema de reprodução, herdabilidade de caracteres de interesse, entre outros. Recentemente, alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com esse intuito, em espécies arbóreas nativas, associando-se análises de caracteres quantitativos e técnicas de genética molecular (SANTANA, 2010; AGUIAR et al., 2011; ASSIS, 2011; SANTOS, 2012).

Dentre os marcadores moleculares de DNA empregados nesses estudos, destacam-se os microssatélites (SSR: *Simple Sequence Repeats*), sequências de DNA de 2 a 6 pares de bases repetidas lado a lado ou em *tandem*, podendo as regiões ser detectadas pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a partir da utilização de *primers* específicos (FALEIRO, 2007), por serem abundantes e uniformemente distribuídos por todo genoma, propiciarem um alto conteúdo de informação genética e possuírem herança codominante e natureza multialélica (OLIVEIRA et al., 2006). Tais atributos permitem caracterizar corretamente um indivíduo em uma população, bem como monitorar a transmissão de genes por gerações, acelerando a obtenção das estimativas de parâmetros genéticos imprescindíveis nos estudos de populações e conservação genética (CHASE et al., 1996).

Esses marcadores têm sido utilizados para estudar variabilidade de populações naturais (LIRA et al., 2003; BRONDANI et al., 2005; BARROSO et al., 2010), sistema de reprodução e tamanho efetivo de população (ALVES et al., 2009; MANOEL et al., 2012; GONELA et al., 2013) permitindo analisar desde indivíduos até espécies proximamente relacionadas (OLIVEIRA et al., 2006). Viegas et al. (2011), ao investigarem a diversidade, estrutura genética e o tamanho efetivo retido em um banco de germoplasma de duas populações da espécie, procedentes de Aramina-SP e Selvíria-MS, por meio de locos microssatélites, constataram alta diversidade genética, quando comparada aos resultados obtidos em estudos com populações de *M. urundeuva* na região do Paraguai e Argentina (CAETANO et al., 2005; 2008).

Os estudos da variação genética entre e dentro de populações naturais são fundamentais para o conhecimento da estrutura de populações e podem ser realizados a partir de testes de progênies por marcadores genéticos moleculares. No entanto, para este objetivo, quando se tem informações sobre a performance silvicultural das espécies, o uso de testes de progênies podem apresentar maior eficiência. As estimativas de parâmetros genéticos em progênies, obtidos a partir desses testes por caracteres quantitativos, permitem avaliar a variabilidade genética

de populações e a herdabilidade de um dado caráter. Moraes et al. (2012), com o objetivo de determinar a idade ideal para seleção em progênie de *M. urundeuva*, por meio de caracteres de crescimento, analisaram a tendência de parâmetros genéticos, de acordo com as idades das progênies, e observaram que as herdabilidades tenderam a aumentar com a idade.

A obtenção de estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos é fundamental para orientar os futuros trabalhos de melhoramento, especialmente no caso de espécies arbóreas (CHINELATO et al., 2014). Diante de tal importância, estudos dessa natureza, para caracteres quantitativos em testes de progênies de polinização aberta, são observados na literatura (Quadro 1).

Quadro 1 – Estimativas de parâmetros genéticos para altura (ALT) e diâmetro a altura do peito (DAP) em espécies arbóreas nativas, em diferentes idades (em anos)

Espécie	Origem	Caráter	Idade (anos)	CV_g (%)	h_a^2	h_m^2	Fonte
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	Alvorada do Sul-PR	ALT	27	2,9	0,01	0,70	Kubota et al. (2015)
		DAP		1,1	0,00	0,01	
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	Gália-SP	ALT	27	7,2	0,06	0,19	Kubota et al. (2015)
		DAP		1,8	0,00	0,02	
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	Bauru-SP	ALT	27	10,6	0,19	0,60	Kubota et al. (2015)
		DAP		12,4	0,21	0,61	
<i>Cordia trichotoma</i>	Bauru-SP	ALT	19	2,3	0,04	0,12	Freitas et al. (2006b)
		DAP		11,4	0,48	0,77	
<i>Dipteryx alata</i>	Brasilândia-MS	ALT	09	14,1	0,14	0,58	Zaruma et al. (2015)
		DAP		17,1	0,15	0,68	
<i>Dipteryx alata</i>	Campina Verde-MG	ALT	09	26,4	0,27	0,71	Zaruma et al. (2015)
		DAP		24,4	0,20	0,70	
<i>Dipteryx alata</i>	Itarumã-GO	ALT	09	30,7	0,29	0,84	Zaruma et al. (2015)
		DAP		31,1	0,27	0,86	
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	Bauru-SP	ALT	19	10,1	0,36	0,66	Sant'Ana et al. (2013)
			20	9,2	0,31	0,62	
			21	10,3	0,35	0,67	
			21	10,3	0,35	0,67	
		DAP	19	10,8	0,32	0,65	
			20	10,7	0,32	0,65	
<i>Gallesia gorarema</i>	Tenente Portela-PR	ALT	9	0,0	0,00	-	Siqueira et al. (1999)
		DAP		3,5	0,09	-	
<i>Gallesia integrifolia</i>	Ribeirão Preto, Campinas, Bauru (SP)	ALT	23	4,0	-	0,32	Sebbenn et al. (2009a)
		DAP		8,0	-	0,58	
<i>Handroanthus vellosi</i>	Bebedouro-SP	ALT	24	32,9	0,75	0,85	Batista et al. (2012)
		DAP		37,4	0,50	0,79	

Quadro 1 (Cont...)

Espécie		Caráter	Idade (anos)	CV_g (%)	h_a^2	h_m^2	Fonte
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	Ilha Solteira- SP	ALT	1	9,4	--	0,54	Moraes et al. (2013)
			2	11,3		0,53	
		DA3*	1	10,2		0,72	
			2	9,9		0,48	
<i>Jatropha curcas</i>	Janaúba- MG e Jales- SP	ALT	1	24,8	0,19	0,33	Fernandes et al. (2015)
			2	23,0	0,15	0,28	
			4	14,5	0,24	0,42	
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Paulo de Faria-SP	ALT	2	6,9	--	0,40	Oliveira et al. (2000)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Paulo de Faria-SP	ALT	3	5,8	0,14	--	Freitas et al. (2006a)
			4	6,5	0,28	--	
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Paulo de Faria-SP	ALT	3	7,4	0,37	--	Freitas et al. (2006a)
			4	6,6	0,31	--	
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Selvíria-MS	ALT	20	7,5	0,12	0,24	Tung et al. (2010)
		DAP		12,2	0,08	0,25	
<i>Myroxylon peruiferum</i>	Campinas, Jaú, Pederneiras e Bento Quirino (SP)	ALT	11	7,5	0,19	--	Sebbenn et al. (1998)
		DAP		6,6	0,19		
<i>Peltophorum dubium</i>	Alvorada do Sul-PR	ALT	8	0,2	0,00	--	Siqueira et al. (1999)
		DAP		4,1	0,27		
<i>Peltophorum dubium</i>	Tenente Portela-PR	ALT	24	2,3	0,12	0,35	Senna et al. (2012)
		DAP		4,8	0,25	0,66	

Quadro 1 (Cont...)

Espécie		Caráter	Idade (anos)	CV_g (%)	h_a^2	h_m^2	Fonte
<i>Schizolobium parahyba</i>	Botucatu-SP	ALT	5,5	3,3	0,01	0,01	Chinelato et al. (2014)
		DAP		2,8	0,01	0,01	
<i>Tabebuia heptaphylla</i>	Bauru-SP	DAP	22	3,3	0,03	0,25	Freitas et al. (2008b)

CV_g : coeficiente de variação genética aditiva individual; $\hat{h}_a^2$: herdabilidade individual no sentido restrito; $\hat{h}_m^2$: herdabilidade média de progênie; DA3*: diâmetro a 30 cm do solo; --: caráter ou parâmetro não avaliado.

Sistema de reprodução em espécies florestais

O sistema de reprodução determina o modo de cruzamento para a reprodução em plantas (ZHAO et al., 2014). É responsável pela transferência de genes de uma geração para outra, o que pode ocorrer por meio de cruzamentos aleatórios, cruzamentos correlacionados, autofecundação, apomixia ou suas combinações (DEGEN & SEBBENN, 2014). O modo de cruzamento de uma espécie é afetado, indiretamente, pela estrutura da população: tamanho, grau de fragmentação, isolamento geográfico, presença de polinizadores etc. (ZHAO et al., 2014).

A polinização é um processo chave para a reprodução em plantas com flores. A ausência de polinização eficaz reduz o sucesso reprodutivo, afetando negativamente a diversidade genética das populações ao longo das gerações (KIKUCHI et al., 2015). Assim, a forma como as espécies recombina seus genes a cada evento reprodutivo e formam as populações descendentes é um ponto importante a ser conhecido. Tais informações são fundamentais para o delineamento de estratégias para a conservação e uso dessas espécies, permitindo realizar previsões mais realistas sobre tamanhos amostrais para a conservação genética, bem como adotar estratégias mais eficientes de seleção, uma vez que o sistema de reprodução

determina a magnitude da coancestria e da endogamia na população descendente (MORI et al., 2013).

Em espécies dioicas, como é o caso de *M. urundeuva*, a endogamia pode ocorrer por meio de cruzamentos entre parentes (MANOEL et al., 2015). Isto pode ser esperado em populações em que há número reduzido de parceiros locais para cruzamento (VRANCKX et al., 2012), bem como ausência de parceiros de populações vizinhas. Embora predominantes os cruzamentos em espécies arbóreas, têm sido observado sistemas de reprodução flexíveis, resultando em altas taxas de autofecundação (WARD et al., 2005; BREED et al., 2012).

CAPÍTULO 1

DISTRIBUIÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. ALLEMÃO) EM DIFERENTES BIOMAS

Danilla Cristina Lemos Souza; Wanderley dos Santos; Francine Beatriz de Souza; Angélica Leonel Coletto; Walter Aparecido Ribeiro Júnior; Jhenifer Danielle Ferracini Barbosa; Celso Luis Marino; Mario Luiz Teixeira de Moraes

RESUMO

Plantas que ocupam diferentes biomas, frequentemente, apresentam plasticidade ecológica, como é o caso da *Myracrodruon urundeuva* (Anarcadiaceae), uma espécie de madeira nobre e uso farmacológico. Devido à sua exploração de modo predatório extensivo, associada à devastação de seus habitats, houve comprometimento de suas populações naturais, o que requer estudos para garantir sua conservação. Com o intuito de fornecer subsídios para a conservação *ex situ* e programas de melhoramento genético de *M. urundeuva*, este trabalho foi realizado com o objetivo de quantificar a distribuição da variabilidade genética de cinco populações da espécie, a considerar sua origem de diferentes biomas do Brasil, por meio de caracteres quantitativos de crescimento, e estimar possíveis ganhos nessas populações. Para obtenção das estimativas de parâmetros genéticos, os caracteres altura, diâmetro a altura do peito (DAP), diâmetro médio de copa e sobrevivência foram mensurados. Os valores altos a medianos, observados para sobrevivência (96,4% a 70,8%), indicam boa adaptação das populações de *M. urundeuva* e potencial para uso em reflorestamentos. As estimativas do coeficiente de variação genética oscilaram de 3% a 24,6%, em nível de indivíduo, e de 1,5% a 12,3%, entre progênies, e as herdabilidades individuais variaram de moderada (0,41) a baixa (0,01) para os caracteres apresentados, em todas as populações. Empregando-se o valor genético dos indivíduos, o DAP foi utilizado para estimar ganhos genéticos na seleção de indivíduos dentro de progênies, sendo a população de Itarumã a mais indicada ao melhoramento genético, no referido ano de avaliação dessas populações (população de Itarumã, aos 11 anos de idade). A variação genética, nas populações de Aquidauana, Itarumã e Seridó é expressiva, com destaque para a de

Seridó. Considerando-se o valor de referência de 150, o tamanho efetivo populacional obtido nas populações de *M. urundeuva* não permite sua conservação genética em curto prazo, com exceção da população de Aquidauana, onde foi amostrado maior número de progênies.

Palavras-chave: Aroeira; Caracteres quantitativos; Conservação *ex situ*, Melhoramento genético.

ABSTRACT

Plants that occupy different biomes often have ecological plasticity, such as the *Myracrodruon urundeuva* (Anarcadiaceae), a species of hardwood and drug use. Due to its extensive exploration predatory mode, associated with the devastation of their habitats, there was impairment of its natural populations, requiring studies to ensure their conservation. In order to provide subsidies for the *ex situ* conservation and breeding programs of *M. urundeuva*, this work was carried out in order to quantify the distribution of the genetic variability of the species, considering its origin from different biomes of Brazil, through of quantitative traits of growth, and estimate potential gains in the selection, in five progeny tests: Aquidauana-MS, MS-Selvária, Itarumã-GO, Paulo de Faria-SP and Seridó-RN. To obtain estimates of genetic parameters, the characters height, diameter at breast height, average crown diameter and survival were measured. The values high to median, observed for survival (96.4% to 70.8%), indicate good adaptation of populations of *M. urundeuva* and potential for use in reforestation. Estimates of genetic variation ranged from 3% to 24.6%, individual level, and 1.5% to 12.3%, between progenies, and individual heritability ranged from moderate (0.41) at low (0.01), for all characters, in all populations. Employing the genetic value of individuals, the DBH was used to estimate genetic gains in the selection of individuals within families, and the population of Itarumã the most suitable to breeding. The genetic variation in the populations of Aquidauana, Itarumã and Seridó is expressive, with emphasis on Seridó. Considering the reference value of 150, the effective population size obtained in the populations of *M. urundeuva* does not allow their genetic conservation in the short term, except for the population of Aquidauana, where greater numbers of seeds trees were sampled.

Keywords: Aroeira, *Ex situ* conservation, Genetic improvement, Quantitative characters.

1.1 INTRODUÇÃO

Por ocuparem grande área territorial, os biomas são formações complexas que compreendem diversos tipos de habitat. A diversidade e riqueza de espécies que compõem os biomas está relacionada à adaptação das plantas ao ambiente (HOFFMANN; FRANCO, 2008). Plantas que ocupam diferentes formações vegetais, frequentemente, apresentam plasticidade ecológica (AGUIAR-DIAS et al., 2012), como é o caso da *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão).

Myracrodruon urundeuva (aroeira), pertencente à família Anarcadiaceae, é uma espécie arbórea dioica (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991), que se estende naturalmente pelas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul no Brasil, e na região chaquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina (CARVALHO, 1994; LORENZI, 2008; NOGUEIRA, 2010). No Brasil, ocorre nos biomas: Cerrado, Pantanal, Mata Atlântica e Caatinga, incluindo áreas de transição entre os mesmos.

A sua madeira, utilizada na confecção de esteios, postes, moirões e dormentes, apresenta alta durabilidade e resistência (LORENZI, 2008; NOGUEIRA, 2010), o que lhe confere reconhecido valor econômico. Além disso, é amplamente empregada no uso farmacológico, em geral, para ação anti-inflamatória e propriedades curativas (LUCENA et al., 2008; MACHADO et al., 2014; VIANA et al., 2014), tanto na medicina popular, principalmente na região Semiárida do país (ALBUQUERQUE et al., 2007; RAMOS et al., 2008; TRENTIN et al., 2011; SILVA et al., 2012; MONTEIRO et al., 2014), como na fabricação de medicamentos (BOTELHO et al., 2007).

Myracrodruon urundeuva é explorada de modo predatório extensivo, o que, associado à devastação de seus habitats, promove o comprometimento de suas populações naturais, e, portanto, requer estudos para garantir sua conservação (ANDRADE et al., 2013). Com o objetivo de conservação genética *ex situ*, a partir de 1985, foram coletadas sementes da espécie em diferentes regiões do Brasil (Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste), e instalados testes de progênies na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEPE/FEIS), de forma a representar diferentes populações remanescentes da espécie.

A estimativa de parâmetros genéticos em testes de progênies permite conhecer a natureza da ação gênica envolvida na herança de caracteres silviculturais

estudados, estabelecendo bases para definição de estratégias de melhoramento genético (TUNG et al., 2010). Assim, os testes de progênies, além de úteis para conservação de espécies arbóreas nativas, são considerados ferramenta importante para o melhoramento genético, uma vez que possibilita manter as melhores progênies e indivíduos, com consequente maximização dos ganhos genéticos, por meio da seleção. Esses testes podem ainda ser transformados em futuros “Pomares de Sementes por Mudanças” (PMS) com boa qualidade genética para recuperação de áreas degradadas.

Com o intuito de fornecer subsídios para a conservação *ex situ* e para programas de melhoramento genético de *M. urundeuva*, este trabalho foi realizado com os objetivos de: (i) estimar a variação genética existente em cinco testes de progênies de *M.urundeuva* da FEPE/FEIS, a considerar sua origem de diferentes biomas do Brasil, por meio de caracteres quantitativos de crescimento; (ii) conhecer a representatividade das populações de aroeira, fundamentando-se no tamanho efetivo populacional; e (iii) estimar possíveis ganhos na seleção, visando à transformação dos testes de progênies em pomar PMS.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Amostragem e caracteres avaliados

Sementes de polinização aberta de populações naturais de *M. urundeuva* foram coletadas em diferentes regiões do Brasil (Figura 1) para constituir o banco de conservação genética *ex situ* de *M.urundeuva* da FEPE/FEIS (20º 18' S e 52º 40' W, altitude de 340 m), localizado no município de Selvíria–MS.

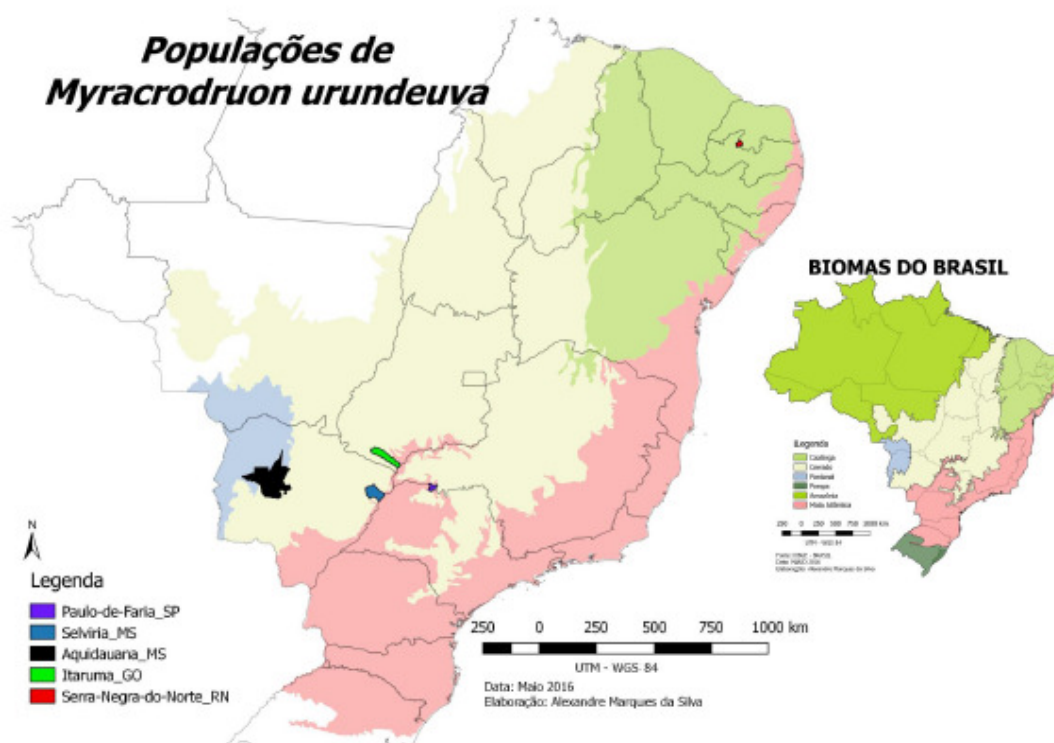


Figura 1. Localização das populações naturais de *Myracrodruon urundeuva* e o bioma a que pertencem.

As populações de estudo são remanescentes florestais com diferentes intensidades de exploração. As populações de Paulo de Faria e Seridó foram coletadas em áreas, atualmente, sem perturbação antrópica, situadas, respectivamente, na Estação Ecológica de Paulo de Faria (EEPF - 19° 58' S e 49° 32' W, 495 m de altitude) pertencente ao Instituto Florestal de São Paulo, localizada no município de Paulo de Faria-SP, e na Estação Ecológica do Seridó (EES - 6° 66' S e 37° 40' W, 160 m de altitude), inserida no Programa Nacional de Meio Ambiente, situada na microregião do Seridó, no município de Serra Negra do Norte-RN. As populações de Aquidauana-MS (20° 28' S e 56° 59' W, 147 m de altitude), Selvíria-MS (20° 22' S e 51° 26' W, 372 m de altitude) e Itarumã-GO (18° 44' S e 51° 13' W, 480 m de altitude) foram obtidas de fragmentos florestais com forte perturbação antrópica.

A EEPF possui 436 ha, com a população de *M. urundeuva* abrangendo cerca de 142 ha, em área de mata ciliar. O número total de indivíduos da espécie, neste local, é de 470 (densidade de 3,3 árvores por hectare), e a coleta de sementes se deu em plantas distantes em, pelo menos, 100 m (GAINO et al., 2010, 2011). Na EES, a

vegetação apresenta-se preservada, com árvores de grande porte e diversidade de espécies (LACERDA et al., 1999). As demais regiões de coleta correspondem a áreas de pastagens e cultivo de espécies perenes. Em Selvíria, estima-se que a população de *M. urundeuva* ocupa uma área de aproximadamente 10.000 ha, altamente explorada pela pecuária extensiva, onde as sementes foram obtidas de árvores isoladas, com distância média em torno de 1.000 m (MORAES et al., 2005).

O clima, segundo a classificação de Köppen, e o solo das regiões em que foram feitas as coletas de sementes são:

i) Aquidauana - área de transição entre Cerrado e Pantanal: clima do tipo Aw, tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual está em torno de 1.350 mm e a temperatura média anual em torno de 26,5 °C (SANT'ANNA NETO, 1993). Os solos de maior ocorrência na região são Podzol Hidromórfico, Plintossolo álico, distrófico e eutrófico e Latossolo Vermelho escuro (MATO GROSSO DO SUL - GOVERNOS, 1989).

ii) Selvíria - Cerrado: também é do tipo Aw, com duas estações bem definidas. Apresenta precipitação pluvial média anual de 1.330 mm, temperatura média anual de 25°C e umidade relativa do ar média anual de 66% (CENTURION, 1982). O solo local é do tipo Latossolo Vermelho distrófico álico e de textura argilosa (EMBRAPA, 2006).

iii) Itarumã - Cerrado: clima tropical sub-úmido, também classificado como do tipo Aw. A precipitação anual varia em média de 1.500 a 1.750 mm e a temperatura média anual possui pequena variação sazonal, com média de 23,8°C. Na região, são identificados três tipos predominantes de solos: Latossolos, Argissolos e Neossolos Quartzarênicos (EMBRAPA, 2007).

iv) Paulo de Faria - Mata Atlântica (Floresta Estacional Semidecidual): definido como do tipo Aw, tropical quente e úmido, com temperaturas médias máximas iguais ou inferiores a 34°C, na estação quente, e temperaturas médias mínimas, na estação menos quente, abaixo de 22,2°C. A precipitação anual média é de 1.411 mm. Os solos da Estação Ecológica pertencem à unidade taxonômica Latossolo Vermelho e Neossolo Litólico (STRANGHETTI, 1996).

v) Seridó - Caatinga: clima do tipo BsWh, Semiárido, com altas taxas de evapotranspiração. A temperatura média anual é em torno de 34°C e a pluviosidade total anual de 800 mm (FERREIRA et al., 2009). Os tipos de solos mais frequentes

na região são os Luvisolos Crômicos, Neossolos Litólicos, Planossolos Nátricos e o Latossolo Vermelho-Amarelo (EMBRAPA, 1999).

As populações de estudo foram instaladas na forma de testes de progênies (Tabela 1).

Tabela 1. Características dos testes de progênies instalados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia (FEPE/FEIS), em Selvíria-MS.

População	Instalação	NP	Rep	AP	Espaçamento (m)
Aquidauana - MS	12/2010	60	43	1	3,0 x 3,0
Selvíria - MS	12/1987	28	3	10	3,0 x 3,0
Itarumã - GO	06/2004	30	12	3	2,0 x 6,0
Paulo de Faria - SP	04/1997	30	3	10	3,0 x 1,5
Seridó - RN	04/1997	12	6	10	3,0 x 1,5

NP: número de progênies; Rep: número de repetições; AP: número de plantas por parcela linear.

Os caracteres quantitativos avaliados, em todos os testes de progênies, no ano de 2015, foram: altura total (ALT- m); diâmetro a altura do peito (DAP - cm); diâmetro médio de copa (DMC - m), $DMC=(L1+L2)/2$, em que *L1*: leitura do diâmetro da projeção da copa na linha e *L2*: leitura do diâmetro da projeção da copa na entrelinha; e sobrevivência (SOB - %).

1.2.2 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos

As estimativas de parâmetros genéticos foram obtidas pelo método REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita / melhor predição linear não viciada), empregando-se o *software* genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP (RESENDE, 2007). Cada teste de progênies foi avaliado individualmente, adotando-se o modelo aplicado aos testes de progênies de meios-irmãos, delineamento blocos ao acaso, várias plantas por parcela, um só local e uma única população (RESENDE, 2007):

$$Y = XB + ZA + WP + E,$$

em que: Y é o vetor de dados; B é o vetor dos efeitos de blocos (fixos); A é o vetor dos efeitos genéticos aditivos (aleatórios); P é o vetor dos efeitos de parcela (aleatórios); E é o vetor dos efeitos de erros aleatórios. X, Z e W são matrizes de incidência para B, A e P, respectivamente.

Na análise da população de Aquidauana, foi adotado o modelo aplicado aos testes de progênies de meios-irmãos, delineamento blocos ao acaso, uma planta por parcela, um só local e uma única população (RESENDE, 2007):

$$Y = XR + ZA + E,$$

em que: em que Y é o vetor de dados; R é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; A é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios); E é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

1.2.3 Estimativas de ganhos na seleção

A estimativa de ganhos na seleção foi realizada objetivando a seleção de indivíduos, com base no DAP, empregando-se o valor genético (BLUP's) (RESENDE, 2007). Esta análise não foi realizada para a população de Aquidauana, pois o teste de progênies possuía apenas cinco anos de idade, no ano de medição. Ainda que espécies consideradas não regionais (espécies nativas brasileiras que não pertencem à formação vegetacional onde é realizado o plantio) mostrem bom desenvolvimento inicial, as mesmas podem apresentar problemas futuros de sobrevivência e de perpetuação no local. Isso se deve aos fatores ambientais característicos daquele sistema para os quais as espécies regionais desenvolveram adaptações ao longo de sua evolução (RODRIGUES et al., 2009).

Foram realizadas estimativas para duas condições: a) seleção dentro de progênies (SDP), com intensidade de desbaste de 30%, para efeito da escolha dos indivíduos de cada uma das progênies ($k_f = k \neq 0$), ou seja, com k_f constante igual a k, sendo $k \neq 0$; b) seleção dos primeiros indivíduos que apresentaram as maiores estimativas para o efeito genético aditivo ($\hat{a}$), a seleção de indivíduos superiores (SIS), não se levando em consideração o número de indivíduos que cada progênie pudesse ter ($k_f = \forall, k \neq 0$), ou seja, k_f pode assumir qualquer valor k, desde que $k \neq 0$, porém, com mesmo número total de indivíduos selecionados que a condição anterior. A escolha de uma das condições de seleção permitirá que o teste de progênie possa ser transformado em um pomar de sementes.

O tamanho efetivo populacional (N_e) foi obtido com base em Resende (2007): $N_e = (4.N_f.\bar{k}_f)/[\bar{k}_f + 3 + (\sigma_{kf}^2/\bar{k}_f)]$ em que: $\bar{k}_f$: número médio de indivíduos selecionados por progênie; σ_{kf}^2 : variância do número de indivíduos selecionados por progênie; N_f : nº de progênies selecionadas. A diversidade genética (D), após a seleção, foi quantificada conforme Wei e Lindgren (1996): $D = N_{ef}/N_{fo}$, em que $0 < D \leq 1$; N_{fo} : número original de progênies, N_{ef} : número efetivo de progênies selecionadas, dado por: $N_{ef} = (\sum k_f)^2 / \sum k_f^2$.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população de Selvíria, apesar de ser a população local, apresentou menor valor para o caráter sobrevivência, em comparação com as populações de Itarumã e Paulo de Faria (plantios considerados já estabelecidos, em função da idade). Isso pode ter ocorrido pelo fato do plantio de Selvíria ser mais antigo (28 anos de idade) e, em consequência, ser esperado um maior número de árvores suprimidas/extintas durante os anos, e também por se tratar de uma espécie arbórea de vida longa: no futuro, poderá haver maior mortalidade para os plantios de Itarumã e Paulo de Faria. De modo geral, os valores altos a medianos (Aquidauana - 96,4%; Selvíria - 80%; Itarumã - 88,8%; Paulo de Faria - 83,9%; e Seridó - 70,8%), observados para tal caráter, indicam boa adaptação das populações em estudo e potencial para uso em reflorestamentos. Esses valores foram inferiores aos obtidos por Canuto (2009), em 2007, nestes mesmos experimentos, quando foi observada sobrevivência de 80,6% para população de Selvíria, 90,8% para Itarumã, 84,5% para Paulo de Faria e 71,1% para Seridó. Esta mortalidade, após o estabelecimento do plantio, pode estar associada ao efeito de competição entre os indivíduos e ainda, segundo Sebbenn et al. (2009a), a seleção natural contra indivíduos endogâmicos é uma das causas desse padrão. A eliminação desses indivíduos é, provavelmente, maior nos primeiros anos de plantio, reduzindo-se após alguns anos.

Ao considerar que indivíduos adultos de *M. urundeuva* podem atingir até 30 m de altura e 100 cm de DAP (NOGUEIRA, 2010), observou-se baixo desenvolvimento médio para os testes de progênies de *M. urundeuva* das populações de Selvíria

(ALT - 10,39 m; DAP - 12,70 cm), aos 28 anos, Itarumã (ALT – 9,01 m; DAP - 11,00 cm), aos 11 anos, Paulo de Faria (ALT – 9,01 m; DAP – 10,13 cm), aos 18 anos, e Seridó (ALT – 6,75 m; DAP – 8,00 cm), aos 18 anos (Tabela 2). Em relação ao teste de Aquidauana, que é um plantio juvenil (cinco anos de idade), verificou-se valor médio inferior, para o caráter altura (3,46 m), ao obtido por Freitas et al. (2006) (5,27 m), em um teste de progênies da espécie, com idade semelhante (quatro anos) e também instalado na FEPE/FEIS, em Selvíria, obtido, porém, de um fragmento situado na EEPF, ao contrário da população de Aquidauana, que foi obtida em áreas de pastagem (árvores isoladas).

O crescimento limitado para os indivíduos das populações em estudo pode ser decorrente do fato destas populações estarem ocupando um ambiente diferente de sua origem (com exceção da população de Selvíria), ou seja, as condições edafoclimáticas da região devem estar influenciando diretamente no fenótipo de seus indivíduos. Essa plasticidade é considerada um mecanismo de adaptação importante para espécies vegetais em ambientes heterogêneos (BRADSHAW, 1965), e aumenta a capacidade do indivíduo de sobreviver e reproduzir sob essas condições (BOSCHILIA et al., 2006). Além das populações estarem em um ambiente diferente de sua origem, o porte de plantas nativas varia de acordo com a região de ocorrência natural. O crescimento observado por Nogueira (2010) se deu em indivíduos encontrados em áreas de vegetação ciliar, no bioma Mata Atlântica. Na Caatinga e no Cerrado, *M. urundeuva* atinge entre 5 e 20 m de altura e 30 e 60 cm de DAP, e pode chegar até 27 m de altura e 85 cm de DAP, na região do Chaco (LOPEZ et al., 1987).

Sobre o desenvolvimento da população de Selvíria, valores médios superiores foram observados para os caracteres altura e DAP (10,39 m e 12,70 cm, respectivamente) (Tabela 2), em relação às demais populações de estudo. Isso era esperado, pois esta população está sob mesmas condições edafoclimáticas que a sua de origem. Esses valores também foram superiores quando comparados com os obtidos por Guerra et al. (2009) (avaliação aos 15 anos; 6,02 m de altura e 5,98 cm de DAP), Tung et al. (2010) (avaliação aos 20 anos; 9,11 m de altura e 11,35 cm de DAP) e Otsubo et al. (2015) (avaliação aos 14 anos; 9,08 m de altura e 9,42 cm de DAP), em testes de progênies de *M. urundeuva*, estabelecidos a partir de populações naturais do mesmo município. Ao levar em consideração que estas populações não se encontram sob condições ambientais diferenciadas das de

origem, uma possível explicação para estes valores reduzidos das quatro populações de Selvíria, comparados com o porte que um indivíduo adulto de *M. urundeuva* pode atingir, é que quando as plantas crescem em populações/plantios são morfológica e funcionalmente diferentes de plantas que crescem isoladas e/ou em florestas naturais (BIANCHI et al., 2006). Assim, para estes autores, a plasticidade, como ajustamento, é em parte promovida por mecanismos que utilizam informações do ambiente e estimulam modificações morfológicas e fisiológicas em adaptação a densidades populacionais.

Os valores médios observados para o caráter DMC foram de 3,01 m para população de Aquidauana; 4,51 m para Selvíria; 5,30 m para Itarumã; 3,80 m para Paulo de Faria; e 3,75 m para população de Seridó (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Canuto (2009), para as mesmas populações em estudo (com exceção da população de Aquidauana), e por Guerra et al. (2009) e Otsubo et al. (2015), ao avaliarem populações de *M. urundeuva* provenientes do município de Selvíria-MS.

A precisão experimental para os caracteres analisados, revelada pelo coeficiente de variação experimental (CV_e), variou de 11% a 33,7% (Tabela 2). Maiores valores foram observados para o teste procedente de Aquidauana (ALT - 22,6%, DAP - 33,7%, DMC - 23,1%), o que pode ser causa da idade do plantio (ainda juvenil), uma vez que maiores variações são esperadas, e da disposição do experimento, com apenas uma planta por parcela. De modo geral, os demais valores de CV_e podem ser considerados baixos, o que promove boa precisão nas estimativas dos parâmetros genéticos.

Tabela 2. Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos para os caracteres: ALT (altura total - m), DAP (diâmetro à altura do peito - cm), e DMC (diâmetro médio de copa - m); e tamanho efetivo populacional em testes de progênes de *M. urundeuva*, em Selvíria-MS.

Estimativa	Aquidauana – MS (224) ¹			Selvíria – MS (102) ¹			Itarumã – GO (111) ¹			Paulo de Faria - SP (109) ¹			Seridó - RN (46) ¹		
	ALT (m)	DAP (cm)	DMC (m)	ALT (m)	DAP (cm)	DMC (m)	ALT (m)	DAP (cm)	DMC (m)	ALT (m)	DAP (cm)	DMC (m)	ALT (m)	DAP (cm)	DMC (m)
$\hat{h}_a^2$	0,19±0,05	0,10±0,04	0,09±0,04	0,10±0,07	0,11±0,07	0,17±0,09	0,33±0,11	0,41±0,12	0,22±0,08	0,04±0,04	0,01±0,01	0,18±0,09	0,34±0,15	0,33±0,15	0,15±0,10
$\hat{h}_m^2$	0,68	0,52	0,50	0,18	0,32	0,40	0,70	0,80	0,67	0,15	0,04	0,44	0,65	0,76	0,53
$\hat{h}_{ad}^2$	0,15	0,07	0,07	0,11	0,09	0,15	0,32	0,35	0,17	0,03	0,01	0,16	0,36	0,30	0,13
$\hat{h}_{aj}^2$	-	-	-	0,14	0,12	0,19	0,39	0,41	0,22	0,04	0,01	0,20	0,42	0,36	0,16
r_{aa}	0,8245	0,7177	0,7064	0,4185	0,5621	0,6302	0,8391	0,8958	0,8171	0,3887	0,1880	0,6599	0,8077	0,8699	0,7250
$\hat{C}_p^2$	-	-	-	0,2832	0,0901	0,1086	0,1579	0,0062	0,0114	0,0610	0,0712	0,0930	0,2002	0,0770	0,1118
CV_{gi} (%)	10,0	10,6	7,0	7,8	11,3	12,1	13,8	21,5	9,6	5,4	3,0	12,4	18,6	24,6	10,6
CV_{gp} (%)	5,0	5,3	3,5	3,9	5,6	6,0	6,9	10,8	4,8	2,7	1,5	6,2	9,3	12,3	5,3
CV_e (%)	22,6	33,7	23,1	14,7	14,4	12,9	15,4	18,5	11,7	11,0	13,7	12,2	16,6	17,1	12,3
CV_r	0,22	0,16	0,15	0,27	0,39	0,47	0,45	0,58	0,41	0,24	0,11	0,51	0,56	0,72	0,43
$\hat{m}$	3,46	4,39	3,01	10,39	12,70	4,51	9,01	11,00	5,30	9,01	10,13	3,80	6,75	8,00	3,75
LRT (χ^2)	39,56**	13,23**	12,34**	0,31	1,07	1,89	24,29**	52,76**	19,28**	0,18	0,00	2,74	4,96*	9,25**	2,23

¹: Tamanho efetivo de população; *, ** significativo a 5% e 1%, com 1 grau de liberdade, respectivamente; $\hat{h}_a^2$: herdabilidade individual no sentido restrito; $\hat{h}_m^2$: herdabilidade da média de progênes; $\hat{h}_{ad}^2$: herdabilidade aditiva dentro de parcela; $\hat{h}_{aj}^2$: herdabilidade individual no sentido restrito, ajustada para os efeitos de parcela; r_{aa} : acurácia; $\hat{C}_p^2$: coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; CV_{gi} : coeficiente de variação genética aditiva individual; CV_{gp} : coeficiente de variação genotípica entre progênes; CV_e : coeficiente de variação experimental; CV_r : coeficiente de variação relativa; $\hat{m}$ - média geral; LRT - Teste da Razão de Verossimilhança; χ^2 : qui-quadrado da deviance.

Como é desejado que haja pouca influência ambiental na variação dentro de parcelas, o ideal para estimativas do coeficiente de determinação dos efeitos de parcela ($\hat{C}_p^2$) são valores iguais ou inferiores a 0,10 (STURION; RESENDE, 2005). Em todos os testes de progênies avaliados, foram verificados valores menores que o citado para o caráter DAP. Para os demais, houve variação de 0,01 a 0,28. Estes resultados sugerem o DAP como o caráter mais indicado para realizar seleção.

Para as populações de Aquidauana, Itarumã e Seridó, variação genética significativa entre progênies foi detectada para todos os caracteres avaliados (exceto para o caráter DMC, na população de Seridó), evidenciada pela significância do valor de χ^2 , com base na análise de deviance (Tabela 2). Assim, há possibilidade de incluir as progênies destas populações em programas de melhoramento, objetivando futuros ganhos genéticos, por meio da seleção de genótipos superiores.

As estimativas dos coeficientes de variação genética (CV_{gi} e CV_{gp}), também, são importantes indicadores do potencial que tem o material em análise para o melhoramento genético. Coeficientes de variação genética acima de 7% são considerados altos (SEBBENN et al., 1998). No presente estudo, os valores do coeficiente de variação genética em nível de indivíduo (CV_{gi}) oscilaram de 3% a 24,6%, sendo o menor e o maior valor obtido para o caráter DAP das populações de Paulo de Faria e Seridó, respectivamente (Tabela 2). Com base nesse parâmetro, a população de Paulo de Faria seria a com menor possibilidade de ganhos na seleção de indivíduos dentro de progênies, para os caracteres avaliados. Para o coeficiente de variação genética entre progênies (CV_{gp}) foram obtidas estimativas de 1,5% e 12,3%. Estes valores, tanto do CV_{gi} quanto do CV_{gp} foram condizentes aos observados por outros autores em *M. urundeuva* e outras espécies florestais nativas (FREITAS et al., 2007; FREITAS et al., 2008a; FREITAS et al., 2008b; GUERRA et al., 2009; TUNG et al., 2010; COSTA et al., 2011; BATISTA et al., 2012; SENNA et al., 2012; SANT'ANA et al., 2013; KUBOTA et al., 2015; OTSUBO et al., 2015). Além de importante para o melhoramento genético, as estimativas dos coeficientes de variação genética indicam se o material conservado *ex situ* reteve parte substancial da variação genética das respectivas populações de origem quanto aos caracteres avaliados (SEBBENN et al., 2009a).

Apesar de se observar variabilidade genética para a população originária do bioma Caatinga (Seridó), neste estudo, atenção particular deve ser disponibilizada

para esta população, com vista à sua conservação. A Caatinga, por responder com maior sensibilidade, está entre os biomas mais vulneráveis a variações climáticas do mundo, apresentando, por exemplo, mudanças no aspecto da vegetação: menos verde, menos folhas novas e menos absorção de carbono do ar. Assim, outras práticas conservacionistas para esta população necessitam ser adotadas, uma vez que se tem conhecimento do tamanho do impacto que a mudança climática causará sobre a diversidade e riqueza de espécies vegetais da Caatinga, podendo ocorrer extinções em massa em algumas regiões (SEDDON et al., 2016). Além disso, deve-se levar em consideração que este bioma é de domínio exclusivamente brasileiro.

O tamanho efetivo populacional (N_e) representa o tamanho da amostra que garante a representatividade genética de uma população coletada em relação à população parental (VENCOVSKY, 1987). Na atividade de colheita de sementes, o ideal é que se procure reunir sempre descendentes de um maior número possível de plantas genitoras (SOUZA et al., 2013). O N_e da população de Seridó (Tabela 2) não apresentou valor ideal para este parâmetro (46), que, segundo Vencovsky (1987), considerando-se um número mínimo de indivíduos em uma população para conservação genética em curto prazo (10 gerações da espécie), minimizando os danos por endogamia, é necessário um N_e de 50, que equivale à colheita de sementes em 12 árvores-matriz, desde que elas ou os pais não sejam aparentados. Apesar de se utilizar o número mínimo de progênies (árvores-matriz) amostradas (12), recomendado pelo autor para obter o N_e de 50, isto pode ter ocorrido devido à mortalidade de aproximadamente 30% dos indivíduos desta população, como causa da existência de indivíduos originados a partir de cruzamentos entre parentes e/ou da dificuldade de adaptação desta população às condições edafoclimáticas do local de implantação do teste de progênies. As demais populações apresentaram valores superiores ao N_e sugerido.

É importante destacar que esse valor de referência de N_e de 50 foi determinado por Vencovsky (1987), com o intuito de viabilizar plantios de fomento, quando se iniciavam as práticas de conservação genética de espécies florestais. Atualmente, é utilizado o valor de referência de N_e de 150 (SEBBENN, 2006). Seguindo este último autor, apenas a população de Aquidauana, população com maior número de progênies amostradas (60), reteve parte substancial da variação genética da população de origem ($N_e = 224$). Assim, mais progênies deveriam ser amostradas nas populações de Selvíria, Itarumã, Paulo de Faria e Seridó.

Como esperado, as herdabilidades em nível de média de progênies ($\hat{h}_m^2$) apresentaram valores mais altos do que em nível de plantas individuais ($\hat{h}_a^2$) e dentro de parcela ($\hat{h}_{ad}^2$) para os caracteres avaliados, em todas as populações, e, em sua maioria, foram observadas altas estimativas ($\hat{h}_m^2 > 0,50$) (Tabela 2), revelando controle genético nos caracteres estudados em nível de média de progênies. Em termos gerais, altas $\hat{h}_m^2$ possibilitam o melhoramento genético via seleção das melhores progênies. Em termos de conservação, tais herdabilidades indicam que essas procedências têm potencial evolutivo para responder a mudanças ambientais, visto que parte significativa da variação genética observada nos caracteres é de origem genética (SEBBENN et al., 2009b). Em trabalhos realizados com *M. urundeuva*, os valores obtidos para este parâmetro, para altura e DAP, variaram de 0,00 a 0,72 (MORAES et al., 1992; OLIVEIRA et al., 2000; SEBBENN; ETTORI, 2001; CANUTO, 2009; GUERRA et al., 2009; OTSUBO et al., 2015), revelando concordância com os aqui observados.

As estimativas de $\hat{h}_a^2$ variaram de moderada (0,41) a baixa (0,01), em todos os caracteres avaliados, em todos os testes de progênies, o que sugere que, mesmo com seleção massal no teste ou dentro de progênies, haverá poucos ganhos genéticos (SEBBENN et al., 2009a). Assim, a seleção entre progênies seria a mais indicada. Porém, como os testes foram instalados com o intuito de conservação genética, deve-se priorizar a manutenção de todas as progênies para que não ocorra perda de variabilidade. É importante ressaltar que houve correlação entre o número de repetições de cada teste de progênies e os valores obtidos para as herdabilidades (não levando em consideração o teste de Aquidauana, por se tratar de um plantio juvenil): os testes de Itarumã e Seridó, os que possuem maior número de repetições (12 e seis repetições, respectivamente), apresentaram maiores herdabilidades em relação ao demais (Selvíria e Paulo de Faria, ambos com três repetições) (Tabela 2). Segundo Etori et al. (2006), o coeficiente de herdabilidade apresenta variação com a idade da planta, pois, até que ocorra pleno estabelecimento das plantas no campo, pode haver maior ou menor influência do ambiente sobre a expressão de traços de crescimento. Assim, infere-se que quanto maior o número de repetições nos testes de progênies maior será o controle

genético de caracteres quantitativos de crescimento e, em consequência, maiores valores serão observados para as herdabilidades.

A escolha de um caráter para a seleção, a partir do valor genético, pode ter como base aquele que oferece as maiores estimativas de coeficiente de variação relativa (CV_r) ou acurácia (r_{aa}). Valores de CV_r entre 0,00 a 0,25 são considerados ruins, 0,25 a 0,50 intermediários, 0,50 a 0,75 bons e acima de 0,75 ótimos; e valores de r_{aa} entre 0,25 a 0,75 são considerados como de magnitude intermediária, e 0,75 a 1,00 de magnitude ótima (RESENDE, 2002). Nesse estudo, como as estimativas obtidas para a acurácia, que representa a relação entre o valor genético verdadeiro e o estimado, apresentaram melhores resultados, este foi o parâmetro em que se foi baseada a escolha do caráter DAP para realizar seleção, nas populações de *M. urundeuva*. O DAP foi o caráter que apresentou as maiores estimativas para acurácia nas populações de Itarumã (89,6%) e Seridó (87%). Nas demais populações, destacou-se o DMC para Selvíria e Paulo de Faria, porém, com valores inferiores a 75% (Tabela 2), o que não permite apontar o grau de confiabilidade dos resultados obtidos na avaliação genética.

As estimativas de ganhos genéticos na seleção de indivíduos, considerando um desbaste de 30%, para as populações de *M. urundeuva* de Selvíria, Itarumã, Paulo de Faria e Seridó foram de baixa magnitude, devido aos baixos valores estimados para as herdabilidades dentro de progênies, além de ter sido realizada a seleção apenas dentro de progênies (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Formas de seleção dentro de progênies (SDP – Seleção Dentro de Progênies; SIS – Seleção de Indivíduos Superiores), para o caráter DAP (diâmetro à altura do peito), em testes de progênies de *Myracrodruon urundeuva*, situado em Selvíria-MS: populações de Selvíria-MS e Itarumã-GO.

Selvíria-MS				Itarumã-GO			
SDP: $k_f = 21$		SIS: $k_f = y, k \neq 0$		SDP: $k_f = 25$		SIS: $k_f = y, k \neq 0$	
Prog	k_f	Prog	k_f	Prog	k_f	Prog	k_f
1	21	1	24	1	25	1	27
2	21	2	21	2	25	2	31
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
27	21	27	26	29	25	29	23
28	21	28	29	30	25	30	35
n	584	N	588	n	750	n	750
N_{fo}	28	N_{fo}	28	N_{fo}	30	N_{fo}	30
N_f	28	N_f	28	N_f	30	N_f	30
k_f	20,86	k_f	21	k_f	25	k_f	25
$\sigma^2 k_f$	0,5714	$\sigma^2 k_f$	29,7778	$\sigma^2 k_f$	0	$\sigma^2 k_f$	62,9655
N_e	97,79	N_e	92,53	N_e	107,14	N_e	98,30
μ (cm)	12,70	μ (cm)	12,7	μ (cm)	11,00	μ (cm)	11,00
a (cm)	0,0711	a (cm)	0,1220	a (cm)	0,4203	a (cm)	0,6542
$\hat{G}s$ (%)	0,55	$\hat{G}s$ (%)	0,94	$\hat{G}s$ (%)	3,82	$\hat{G}s$ (%)	5,91
N_{ef}	27,96	N_{ef}	26,29	N_{ef}	30	N_{ef}	27,34
D	1,00	D	0,94	D	1,00	D	0,91

n: n° de indivíduos selecionados; N_{fo}: n° original de progênies no teste; N_f: n° de progênies selecionadas; k_f: n° de indivíduos selecionados por progênie; $\bar{k}_f$: n° médio de indivíduos selecionados por progênie; N_e: tamanho efetivo; μ : média geral; a: efeito genético aditivo; $\hat{G}s$: ganho na seleção; N_{ef}: n° efetivo de progênies selecionadas; D: diversidade genética.

Tabela 4. Formas de seleção dentro de progênies (SDP – Seleção Dentro de Progênies; SIS – Seleção de Indivíduos Superiores), para o caráter DAP (diâmetro à altura do peito), em testes de progênies de *M. urundeuva* situado em Selvíria-MS: populações de Paulo de Faria e Seridó.

Paulo de Faria-SP				Seridó-RN			
SDP: $k_f = 21$		SIS: $k_f = y, k \neq 0$		SDP: $k_f = 42$		SIS: $k_f = y, k \neq 0$	
Prog	k_f	Prog	k_f	Prog	k_f	Prog	k_f
1	21	1	18	1	39	1	39
2	21	2	20	2	42	2	44
3	21	3	29	3	27	3	27
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
29	21	29	18	11	42	11	49
30	21	30	24	12	40	12	40
n	626	n	630	n	472	n	498
N_{fo}	30	N_{fo}	30	N_{fo}	12	N_{fo}	12
N_f	30	N_f	30	N_f	12	N_f	12
k_f	20,87	k_f	21,00	k_f	39,33	k_f	41,50
$\sigma^2 k_f$	0,3264	$\sigma^2 k_f$	41,0345	$\sigma^2 k_f$	20,6061	$\sigma^2 k_f$	39,9091
N_e	104,83	N_e	97,11	N_e	44,06	N_e	43,82
μ (cm)	10,13	μ (cm)	10,13	μ (cm)	8,00	μ (cm)	8,00
a (cm)	0,0051	a (cm)	0,0094	a (cm)	0,0646	a (cm)	0,0029
$\hat{G}s$ (%)	0,05	$\hat{G}s$ (%)	0,09	$\hat{G}s$ (%)	0,81	$\hat{G}s$ (%)	0,84
N_{ef}	29,98	N_{ef}	27,52	N_{ef}	11,86	N_{ef}	11,75
D	1,00	D	0,92	D	1,00	D	0,98

n : nº de indivíduos selecionados; N_{fo} : nº original de progênies no teste; N_f : nº de progênies selecionadas; k_f : nº de indivíduos selecionados por progênie; k_f : nº médio de indivíduos selecionados por progênie; N_e : tamanho efetivo; μ : média geral; a : efeito genético aditivo; $\hat{G}s$: ganho na seleção; N_{ef} : nº efetivo de progênies selecionadas; D : diversidade genética.

A tendência dos resultados para as estimativas de tamanho efetivo (N_e) e diversidade genética (D) foi a mesma para todas populações, ou seja, os maiores valores para estas estimativas ocorreram na condição SDP, uma vez que, nesse tipo de seleção, um mesmo número de plantas é utilizado em cada progênie, o que contribui para que a variabilidade genética de todas as progênies amostradas seja mantida.

Em função do alto valor observado para o incremento médio anual (IMA) na população de Itarumã, para o caráter DAP (1,00 cm) (Selvíria - 0,45 cm; Paulo de Faria - 0,56 cm; e Seridó - 0,44 cm), essa foi a única população que apresentou ganhos relativamente expressivos, com maior valor na estratégia SIS (5,9%). Por

não ocorrer considerável redução na variabilidade genética ($D= 0,91$) e ter sido mantido um tamanho efetivo populacional viável ($N_e= 98,3$), em comparação com o N_e estimado para SDP (107,14), é recomendada a adoção de SIS. Apesar da pequena possibilidade de ganhos, nas populações de estudos, em *M. urundeuva*, deve-se realizar o desbaste seletivo, de modo a eliminar indivíduos suprimidos e manter as taxas de crescimento nas populações.

Uma alternativa para se obter maiores ganhos genéticos é aumentar a intensidade de seleção, de modo a permanecer no plantio um menor número de plantas por progênie. Otsubo et al. (2015), em *M. urundeuva*, adotando intensidade de seleção de 60% dentro de progênies e utilizando a mesma quantidade de indivíduos para seleção de indivíduos superiores, porém, sem necessariamente amostrar todas as progênies, estimaram ganhos genéticos de 10,2% e 13,7%, respectivamente. No entanto, para intensidades mais altas de seleção, deve-se levar em consideração a proporção entre plantas com florescimento masculino e feminino, entre e dentro das progênies.

1.4 CONCLUSÕES

1. As populações de *M. urundeuva* apresentam boa adaptação às condições ambientais de Selvíria, evidenciadas pelas altas taxas de sobrevivência;
2. A variação genética, nas populações de Aquidauana, Itarumã e Seridó, para os caracteres estudados, é expressiva, destacando-se a de Seridó, do bioma Caatinga.
3. O tamanho efetivo populacional observado nas populações de *M. urundeuva* não permite a sua conservação genética em curto prazo;
4. A população de Itarumã é a mais indicada ao melhoramento genético, no referido ano de avaliação dessas populações (população de Itarumã, aos 10 anos de idade), em função dos ganhos que podem ser obtidos por seleção, em Selvíria-MS;
5. A distribuição da variabilidade genética entre as populações pode ter sido influenciada pelos fatores ambientais e históricos de cada bioma de origem.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR-DIAS, A.C.A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M.M. Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* de restinga e cerrado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 2, p. 395-404, 2012.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M.F. L.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 114, n. 3, p.325-354, 2007.
- ANDRADE, A.P.; BRITO, C.C.; SILVA JÚNIOR, J.; COCOZZA, F.D.M.; SILVA, M.A.V. Estabelecimento inicial de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão em diferentes substrato. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 737-745, 2013.
- BATISTA, C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.A.; ZANATTO, A.C.S.; SANTOS, P.C.; ZANATA, M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Estimativas de parâmetros genéticos e a variabilidade em procedências e progênes de *Handroanthus vellosi*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n.71, p. 269-276, 2012.
- BIANCHI, M. A.; FLECK, N. G.; DILLENBURG, L. R. Partição da competição por recursos do solo e radiação solar entre cultivares de soja e genótipos concorrentes. **Planta Daninha**, Viçosa, v.24, n.4, p.629-639, 2006.
- BOSCHILIA, S. M.; THOMAZ, S. M.; PIANA, P. A. Plasticidade morfológica de *Salvinia herzogii* (de La Sota) em resposta à densidade populacional. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v.28, n.1, p.35-39, 2006.
- BOTELHO, M.A.; RAO, V.S.; CARVALHO, C.B.M.; BEZERRA-FILHO, J.G.; FONSECA, S.G.C.; VALE, M.L.; MONTENEGRO, D.; CUNHA, F.; RIBEIRO, R.A.; BRITO, G.A. *Lippia sidoides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.113, n.3, p.471-478, 2007.
- BRADSHAW, A.D. **Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants**. In *Advances in genetics* (E.M. Caspary & J.M. Thoday, eds.). Academic Press, New York. p.115-155, 1965.
- CANUTO, D.S.O. **Diversidade genética em populações de *Myracrodruon urundeuva* (F. F. e M. F. Allemão) utilizando caracteres quantitativos**. 2009. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira-SP.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Colombo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisas Florestais, 1994. 640p.
- CENTURION, J. F. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. **Científica**, Jaboticabal, v.10, n.1, p.57-61, 1982.

COSTA, R.B.; ALMEIDA, E.V.; KAISER, P.; AZEVEDO, L.P.A.; MARTINEZ, D.T.; TSUKAMOTO FILHO, A.A. Avaliação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.6, n.4, p.685-693, 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, SPI/ CNPS, 1999. 412p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. Ed. Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2007. 55p.

ETTORI, L.C.; FIGLIOLIA, M.B.; SATO, A.S. **Ex Situ Conservation of Genetic Resources of Native Species**: The Current Situation in the Forest Institute. In A.R. Higa, L.D.Silva (Eds.), *Groves of Native Species Seeds*, Curitiba: FUPEF, p.203-226, 2006.

FERREIRA, C.G.T.; OLIVEIRA, R.C.; VALLS, J.F.M.; LOIOLA, M.I.B. Poaceae da Estação Ecológica do Seridó, Rio Grande do Norte, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v.36, n.4, p.679-707, 2009.

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

FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M.; ZANATTO, C.S.; MORAES, E. Formação de pomar de sementes a partir da seleção dentro de teste progênies de *Myracrodruon urundeuva*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.19, n.2, p.65-72, 2007.

FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M.; ZANATTO, A.C.S.; MORAES, E.; HAYASHI, P.H.; MORAES, M.L.T. Variação e parâmetros genéticos em dois bancos de germoplasma de *Tabebuia heptaphylla* (Velloso) Toledo. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.20, n.1, p.13-22, 2008b.

FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M.; ZANATTO, C.S.; MORAES, E.; MORAES, M.A. Variação genética para caracteres quantitativos em população de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.20, n.2, p.165-173, 2008a.

GUERRA, C.R.S.B.; MORAES, M.L.T.; SILVA, C.L.S.P.; CANUTO, D.S.O.; ANDRADE, J.A.C.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M. Estratégias de seleção dentro de progênies em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.81, p.079-087, 2009.

HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from cerrados and forests of central Brazil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.20, n.3, p.247-256, 2008.

KUBOTA, T.Y.K.; MORAES, M.A.; SILVA, E.C.B.; PUPIN, S.; AGUIAR, A.V.; MORAES, M.L.T.; FREITAS, M.L.M.; SATO, A.S.; MACHADO, J.A.R.; SEBBENN, A.M. Variabilidade genética para caracteres silviculturais em progênies de polinização aberta de *Balfourodendron riedelianum* (Engler). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.43, n.106, p.407-15, 2015.

LOPEZ, J.A.; LITTLE JUNIOR, E.I.; RITZ, G.F.; ROMBOLD, J.S.; HAHN, W.J. Árboles comunes dei Paraguay: fiande yvyra mata kuera. Washington: Cuerpo de Paz, 1987. 425p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5.ed. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, v.1, 2008. 384p.

LUCENA, R.F.P.; NASCIMENTO, V.T.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, U.P. Local uses of native plants in an area of caatinga vegetation (Pernambuco, NE Brazil). **Ethnobotany Research and Applications**, Texas, v. 6, p. 3-13, 2008.

MACHADO, A.C.; PIERONI, L.G.; IANO, F.G.; DOKKEDAL, A.L.; OLIVEIRA, R.C. Antioxidant Activity of a Medicinal Plant Extract from the Brazilian Forest: *Myracrodruon urundeuva*. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 76, p.S101, 2014.

MATO GROSSO DO SUL. GOVERNO. **Estudos integrados do potencial de recursos naturais do Estado de Mato Grosso do Sul. (solos)**. Campo Grande, MS: SEPLAN-MS/FIPLAN-MS.1989.38p.

MONTEIRO, J.M.; SOUZA, J.S.N.; LINS NETO, E.M.F.; SCOPEL, K.; TRINDADE, E.F. Does total tannin content explain the use value of spontaneous medicinal plants from the Brazilian semi-arid region? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.24, n.2, p.116-123, 2014.

MORAES, M.L.T.; KAGEYAMA, P.Y.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; KANO, N.K.; CAMBUIM, J. Variação genética em duas populações de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl. - Anacardiaceae). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.4, n.4, p.1241-1245, 1992.

NOGUEIRA, J.C.B. **Reflorestamento misto com essências nativas**: a mata ciliar. Instituto Florestal, São Paulo, 2010, 148p.

OLIVEIRA, S.A.; MORAES, M.L.T.; KURAMOTO, C.M.; SIQUEIEA; A.C.M.F.; KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em progênies de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) sob diferentes condições de cultivo: aspectos silviculturais. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.12, n. 2, p.155-166, 2000.

OTSUBO, H.C.B., MORAES, M.L.T., MORAES, M.A., JOSÉ NETO, M., FREITAS, M.L.M., COSTA, R.B., RESENDE, M.D.V., SEBBENN, A. M. Variação genética para caracteres silviculturais em três espécies arbóreas da região do bolsão sul-mato-grossense. **Cerne**, Lavras, v.21, n.4, p.535-544, 2015.

RAMOS, M.A.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.S.; FELICIANO, A.L.P.; ALBUQUERQUE, U.P. Use and knowledge of fuelwood in an area of Caatinga vegetation in NE Brasil. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.32, p.510-517, 2008.

RESENDE, M.D.V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975p.

RESENDE, M.D.V. **SELEGEN-REML/BLUP**: sistema estatístico e seleção genética computadorizada. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 361p.

RODRIGUES, R. R.; BRANCALION, P. H. S.; ISERNHAGEN, I. (Orgs.) **Pacto para a restauração ecológica da Mata Atlântica**: referencial dos conceitos e ações de restauração florestal. São Paulo: Instituto BioAtlântica, 2009. 256p.

SANT'ANNA NETO, J.L. O caráter transicional do clima e a diversidade da paisagem natural na região de Aquidauana. In: SEMANA DE ESTUDOS GEOGRÁFICOS, 1993, Aquidauana. **Anais...** (p.118-128). Aquidauana, MS: UFMS/CEUC, 1993.

SANT'ANA, V.Z.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.L.T.; ZANATA, M.; ZANATTO, A.C.S.; MORAES, M.A.; SEBBENN, A.M. Parâmetros genéticos em progênies de polinização aberta de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong em Luiz Antonio, SP, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v.40, n.3, p.515-520, 2013.

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. **Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais**. In A.R. Higa e L. Silva, Pomares de sementes de espécies nativas (eds.). Curitiba: FUPEF, p.193-138, 2006.

SEBBENN, A. M.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; KAGEYAMA, P.Y.; MACHADO, J.A.R. Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva – *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 31-38, 1998.

SEBBENN, A.M.; ETTORI, L.C. Conservação genética *ex situ* de *Esenbeckia leiocarpa*, *Myracrodruon urundeuva* e *Peltophorum dubium* em teste de progênies misto. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.13, n.2, p.201-211, 2001.

SEBBENN, A.M.; FREITAS, M.L.M.; ZANATTO, A.C.S.; MORAES, E. Seleção dentro de progênies de polinização aberta de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze (Lecythidaceae), visando à produção de sementes para recuperação ambiental. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.21, n.1, p.27-37, 2009a.

SEBBENN, A.M.; FREITAS, M.L.M.; ZANATTO, M.C.S.; MORAIS, E.; MORAES, M. A. Comportamento da variação genética entre e dentro de procedências e progênes de *Gallesia integrifolia* Vell. Moq. para caracteres quantitativos. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.21, n.2, p.151-63, 2009b.

SEDDON, A.W.R.; MACIAS-FAURIA, M.; LONG, P.R.; BENZ, D.; WILLIS, K.J.W.. Sensitivity of global terrestrial ecosystems to climate variability. **Nature**, London, v.531, n.7593, p.229-232, 2016.

SENNA, S.N.; FREITAS, M.L.M.; ZANATTO, A.C.S.; MORAES, E.; ZANATA, M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Variação e parâmetros genéticos em teste de progênes de polinização livre de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert em Luiz Antonio –SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 95, p.345-352, 2012.

SILVA, M.I.G.; MELO, C. T.V.; VASCONCELOS, L.F.; CARVALHO, A.M. R.; SOUSA, F.C. F. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.22, n.1, p.193-207, 2012.

SOUZA, D.C.L.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; GOMES, L.J.; ALMEIDA, T.S.; OLIVEIRA, A.S.; PEREIRA, G.S.; GOIS, I.B. Produção de frutos e características morfofisiológicas de *Schinus terebinthifolius* Raddi., na região do Baixo São Francisco. **Revista Árvore**, Viçosa, v.37, n.5, p.923-932, 2013.

STRANGHETTI, V. **Levantamento florístico das espécies vasculares de uma floresta estacional no Norte do Estado de São Paulo, Estação Ecológica de Paulo de Faria**. 1996. 164f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

STURION, J.A.; RESENDE, M.D.V. Eficiência do delineamento experimental e capacidade de teste no melhoramento genético de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.50, p.03-10, 2005.

TRENTIN, D.S.; GIORDANI, R.B.; ZIMMER, K.R.; SILVA, A.G.; SILVA, M.V.; CORREIA, M.T.S.; BAUMVOL, I. J. R.; MACEDO, A. J. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.137, n.1, p.327-335, 2011.

TUNG, E.S.C.; FREITAS, M.L.M.; FLORSHEIM, S.M.B.; LIMA, I.L.; LONGUI, E.L.; SANTOS, F.W.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Variação genética para caracteres silviculturais e anatômicos da madeira em progênes de *Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.38, n.87, p.499-508, 2010.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. Ed. Campinas: Fundação Cargill, p.137-214, 1987.

VIANA, G.; CALOU, I.; BANDEIRA, M.A.; GALVÃO, W.; BRITO, G.A. *Myracrodruon urundeuva* Allemão, a Brazilian medicinal species, presents neuroprotective effects on a Parkinson's disease model, in rats. **European Neuropsychopharmacology**, Amsterdam, v.24, n.2, p.230–231, 2014.

WEI, R. P.; LINDGREN, D. Effective Family number following selection with restrictions. **Biometrics**, Arlington, v.52, n.2, p.198-208, 1996.

CAPÍTULO 2
DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA
***Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. ALLEMÃO), UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE**
EXTINÇÃO DAS FLORESTAS TROPICAIS, BASEADO EM SEQUENCIAMENTO
DE NOVA GERAÇÃO

Danilla Cristina Lemos Souza • Bruno César Rossini • Francine Beatriz de Souza •
Alexandre Magno Sebbenn • Celso Luís Marino • Mário Luiz Teixeira de Moraes

RESUMO

Myracrodruon urundeuva é uma espécie arbórea de elevada importância devido, principalmente, à resistência e durabilidade de sua madeira. Ameaçada de extinção, no Brasil, encontra-se presente apenas em poucos remanescentes florestais, em sua maioria, em Unidades de Conservação. Atualmente, há pouca informação sobre a diversidade genética de populações naturais no Brasil e ainda mais sobre o genoma da espécie. Neste estudo, novos locos microssatélites espécie-específicos foram obtidos a partir de sequenciamento de nova geração (Illumina). Uma biblioteca de DNA da espécie foi construída para sequenciamento, por meio dos kits comerciais disponibilizados pelo fabricante, de um *pool* de 10 indivíduos. Foram identificados mais de 100 mil locos na corrida, com motifs di- a hexanucleotídeos. Desses, selecionamos 20 locos para testes de caracterização em 30 indivíduos, sendo que 15 locos obtiveram resultados polimórficos e satisfatórios. O número de alelos por loco variou de 3 a 16, com média de 7,73, e as heterozigosidades esperada (H_e) e observada (H_o) variaram de 0,246 a 0,902 e de 0,103 a 0,867, respectivamente. Esses resultados apontam que este novo conjunto de marcadores tem grande potencial de uso em estudos de ecologia e genética de populações, que são fundamentais na conservação genética da espécie.

Palavras-chave: aroeira, conservação genética, locos microssatélites, genética de populações.

ABSTRACT

Myracrodruon urundeuva is an arboreal species of high economic importance due mainly to the strength and durability of its wood. Threatened of extinction in Brazil, it is present only in few forest remnants, mostly in conservation units. Currently, there is little information on the genetic diversity of natural populations in Brazil and even more about the genome of this species. In this study, new species-specific microsatellite loci were developed based on next-generation sequencing (Illumina). A pool of ten individuals was used to construct a DNA library of the species. More than 100,000 loci were identified in the run, with motifs di- to hexanucleotides. Of these, 20 loci were selected for characterization tests in 30 individuals, with 15 successfully polymorphic loci detected. The number of alleles ranged among loci from 3 to 16, with an average of 7.73, expected (H_e) and observed (H_o) heterozygosity ranging from 0.246 to 0.902 and from 0.103 to 0.867, respectively. These results point out that these new set of markers has a great potential for use in population genetic studies for genetic conservation of the species.

Keywords: aroeira, conservation genetics, microsatellite, population genetics.

2.1 INTRODUÇÃO

Dentro do processo de ocupação humana, as florestas tropicais são as mais devastadas. Associado a isso, a exploração desordenada de espécies arbóreas nativas de interesse econômico promove redução de suas populações, com descontinuidade e isolamento espacial e genético entre elas. Em uma perspectiva futura, populações naturais fragmentadas são mais propícias à perda de diversidade genética, aumento da endogamia e extinção das espécies. Assim, é necessário compreender os efeitos da fragmentação florestal sobre a diversidade e estrutura genética, sistema de cruzamento e fluxo gênico de espécies arbóreas tropicais para sua conservação e uso sustentável.

Myracrodruon urundeuva (F.F. & M.F. Allemão), popularmente conhecida como aroeira (Anacardiaceae) é um caso prático de espécie ameaçada de extinção. Atualmente, no Brasil, populações da espécie são observadas, principalmente, em Unidades de Conservação e bancos de conservação *ex situ*. Nativa da América do Sul, dos países Brasil, Bolívia, Paraguai e Argentina [1], *M. urundeuva* é espécie dioica [2, 3], de polinização cruzada realizada por abelhas [1]. Apresenta madeira de boa qualidade e propriedades medicinais, objeto de diversos estudos [4, 5].

A utilização de marcadores moleculares em estudos genéticos populacionais de espécies arbóreas tem-se mostrado bastante eficaz. Em *M. urundeuva*, estudos prévios foram realizados por meio de marcadores isoenzimáticos [6, 7], RAPD e cpDNA [8, 9], AFLP [10, 11] e mais recentemente por marcadores microssatélites [3, 12-15]. Nesses últimos trabalhos, foram utilizados locos microssatélites desenvolvidos por Caetano et al. [12] para populações de *M. urundeuva* do Paraguai e Argentina. Frente à situação em que se encontra no Brasil, e por ser este o centro de origem da espécie [2], é de suma importância que sejam desenvolvidos novos locos microssatélites, a partir de populações brasileiras de *M. urundeuva*, uma vez que a redução das populações naturais tem levado a uma perda de genes adaptados a ambientes específicos de ocorrência das espécies arbóreas [11].

Com o advento das novas técnicas de sequenciamento, o desenvolvimento de locos microssatélites tornou-se mais rápido e eficiente, sendo possível a identificação de milhares de locos em apenas uma corrida. Nesse sentido, este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver locos microssatélites para *M.*

urundeuva, a partir de uma população do Brasil, visando à implementação de pesquisas de conservação genética para a espécie.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amostragem e extração de DNA

Foram utilizadas 30 amostras de *M. urundeuva*, obtidas de progênes de uma população natural proveniente de Itarumã, estado de Goiás (bioma Cerrado). O DNA genômico foi isolado de folhas, empregando-se o protocolo com CTAB [16], quantificados em NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (NanoDrop Products, DE, USA) e verificada sua integridade em géis de agarose 1%, em corrida com TBE (1X), com tensão constante de 120V.

2.2.2 Identificação dos locos microsatélites, desenho dos *primers* e validação

Primers microsatélites espécie-específicos foram produzidos a partir do sequenciamento de nova geração (MiSeq Sequencing System, Illumina). Para a construção da biblioteca, foi utilizado o kit Nextera DNA Library Preparation, o qual utiliza enzima de restrição para a fragmentação do DNA genômico e ligação de adaptadores para o sequenciamento. Para esta biblioteca, foi utilizado um *pool* de 10 indivíduos para garantir a variabilidade do genoma da espécie. A corrida *paired-end* se deu com o kit MiSeq Reagent v2 500 cycles, 2 x 250 pb, com uma estimativa de 7,5 Gb de dados, utilizando 50% da capacidade da *flowcell*. Após a corrida, foi utilizado o *software* SSR_pipeline [17], um pacote automatizado capaz de realizar a verificação da qualidade das sequências, formação dos *contigs* e identificação dos locos microsatélites. Empregou-se os parâmetros default, com busca de locos microsatélites com *motifs* de 2 a 6 nucleotídeos e 40 pb, regiões flangeadoras para o desenho dos *primers*. Para esse desenho foi utilizado o *software* BatchPrimer3 v1.0 [18]. Foram utilizados 30 indivíduos para avaliar a qualidade e polimorfismo de 20 pares de *primers* para locos microsatélites (sequência dos *primers* a ser publicada em periódico). Para o teste de amplificação (PCR), cada amostra foi preparada para um volume final de 10 µl, contendo: 5 µL GoTaq®

Colorless Master Mix (Promega), 0,3 µL de *primer forward* (2 pmol), 0,3 µL de *primer reverse* (8 pmol) e 0,3 µL de *primer* fluorescente com cauda M13 (8 pmol; 6-FAM, VIC, PET, ou NED, Applied Biosystems), 1 µL DNA genômico (aproximadamente 50 ng). As quantidades de *primers* seguiram o protocolo proposto por Schuelke [19]. O ciclo de amplificação seguiu o programa: 96° C por 2 min, seguido de 35 ciclos de 96 °C por 30 seg, temperatura específica de anelamento de cada par de *primer* por 1 minuto e 30 seg, 72 °C por 1 min e 30 seg, seguido por 12 ciclos de 96 °C por 30 seg, 53 °C por 1 min e 30 seg, 72 °C por 1 min e 30 seg, com extensão final a 72 °C por 20 min. O produto final da PCR foi submetido à eletroforese capilar no sequenciador automático ABI3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems), junto ao marcador GeneScan 500 LIZ (Applied Biosystems). A leitura dos genótipos foi realizada com o *software* GeneMapper v.5.0 (Applied Biosystems).

2.2.3 Análise dos dados

O número de alelos por loco (*A*), a heterozigosidade observada (*Ho*) e a heterozigosidade esperada (*He*) foram estimados para cada loco, utilizando o *software* CERVUS v.3.0.7 [20]. Desvios de Hardy-Weinberg (HWE) e também de desequilíbrio de ligação foram estimados utilizando o *software* Genepop v.4.5.1 [21]. Micro-Checker v.2.2.3 [22] foi utilizado para detectar a possibilidade de alelos nulos.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os novos métodos de sequenciamento de DNA proporcionam um rápido *screening* e geração de dados de locos microssatélites. Diversos estudos apontam um alto número de locos identificados a partir do sequenciamento de nova geração [23 – 25], facilitando, assim, a descoberta de novos marcadores e sua utilização em estudos genéticos populacionais. Nesse trabalho, foram gerados mais de 8,5 milhões de pares de reads durante a corrida de sequenciamento, dos quais foi possível a identificação de mais de 50 mil locos dinucleotídeos, 24 mil trinucleotídeos, 9 mil tetranucleotídeos, 10 mil pentanucleotídeos e 5 mil hexanucleotídeos. Desses, em média, 65% das sequências são possíveis o

desenho dos *primers*, a exceção dos locos dinucleotídeos, onde esta porcentagem foi de 36% (Tabela 1).

Tabela 1. Estatísticas dos marcadores microssatélites desenvolvidos a partir dos dados de sequenciamento em *Myracrodruon urundeuva*.

Número total de reads	17330264				
Número de contigs	7471286				
	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-
Número de contigs contendo microssatélites	50426	24009	9763	10466	5467
Número de contigs com regiões flangeadoras	18267	15766	6282	7253	3387

Foram selecionados 20 locos microssatélites para validação, porém apenas 15 deles amplificaram no tamanho esperado, sendo todos polimórficos. Foram genotipados entre 18 e 30 indivíduos para cada loco. O número de alelos variou de 3 a 16, com média de 7,73 para os 15 locos. As heterozigosidades esperada (*He*) e observada (*Ho*) variaram de 0,246 a 0,902 e de 0,103 a 0,867, respectivamente. Os locos Aro03, Aro04, Aro05, Aro06, Aro11, Aro15 e Aro19 desviaram significativamente do HWE, após a correção sequencial de *Bonferroni* (Tabela 2). A possibilidade desses desvios está ligada à população em si, a qual é composta por progênies derivadas de uma população natural, e ainda pela possibilidade de alelos nulos, à exceção do loco Aro05. O teste de desequilíbrio de ligação entre todos os locos não demonstrou nenhum resultado significativo. O conjunto de locos aqui desenvolvido será útil em análises sobre diversidade e estrutura genética, relações de parentesco, fluxo gênico, endogamia e coancestria, servindo de base para decisões sobre a conservação da espécie.

Tabela 2. Caracterização de 15 locos microssatélites isolados em *Myracrodruon urundeuva*.

Loco	N	A	Ho	He	PIC	HWE	Alelos nulos
Aro02	29	10	0,690	0,844	0,808	ns	-
Aro03	21	11	0,524	0,869	0,831	*	+
Aro04	28	9	0,429	0,748	0,678	*	+
Aro05	27	16	0,815	0,902	0,876	*	-
Aro06	30	7	0,567	0,765	0,716	*	+
Aro10	30	9	0,867	0,802	0,767	ns	-
Aro11	30	5	0,167	0,543	0,496	*	+
Aro12	28	6	0,571	0,645	0,584	ns	-
Aro14	27	4	0,481	0,511	0,452	ns	-
Aro15	30	11	0,667	0,859	0,829	*	+
Aro16	25	5	0,520	0,682	0,616	ns	-
Aro17	30	4	0,567	0,642	0,573	ns	-
Aro18	28	9	0,679	0,781	0,739	ns	-
Aro19	29	3	0,103	0,246	0,220	*	+
Aro20	18	7	0,722	0,746	0,686	ns	-

N: número de amostras analisadas; A: número de alelos; Ho: Heterozigosidade observada; He: Heterozigosidade esperada; PIC: Polymorphism Information Content; HWE: Equilíbrio de Hardy-Weinberg; * desvio significativo; ns: desvio não significativo; - e +: ausência ou presença de alelos nulos, respectivamente.

Em estudo realizado por [13], os locos microssatélites desenvolvidos para *M. urundeuva*, a partir de três populações naturais da Argentina e Paraguai, revelaram uma média de 8,1 alelos/loco, sendo a genotipagem realizada para até 47 indivíduos por loco. Nesse estudo, apesar do uso de apenas uma população e menor número de indivíduos genotipados por loco, foi detectada ampla variação genética. Assim, estes resultados suportam a utilidade destes locos em estudos de genética de populações, contribuindo para a caracterização genética dos remanescentes florestais de *M. urundeuva* e auxiliando nas tomadas de decisão para a conservação genética desta espécie de importante papel ecológico e econômico.

REFERÊNCIAS

1. Carvalho PER (1994) Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Colombo.
2. Santin DA, Leitão Filho HF (1991) Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). Rev. Bras. Bot. 14:133-145.
3. Gaino APSC, Moraes MLT, Moreira JP et al (2011) Mating system in *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae): implications for conservation genetics. Rev. Bras. Bot. 34(4):545-551.
4. Viana G et al (2014) *Myracrodruon urundeuva* Allemão, a Brazilian medicinal species, presents neuroprotective effects on a Parkinson's disease model, in rats. European Neuropsychopharmacology 24(2):230–231.
5. Cecílio AB, Oliveira PC, Caldas S et al (2016) Antiviral activity of *Myracrodruon urundeuva* against rotavirus. Rev. Bras. Farmacogn. Doi: 10.1016/j.bjp.2015.10.005.
6. Moraes MLT, Kageyama PY, Sebbenn AM (2004) Correlated mating in dioecious tropical tree species, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Forest Genetics 11(4):53-59.
7. Moraes MLT, Kageyama PY, Sebbenn AM (2005) Diversidade e estrutura espacial em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob diferentes condições antrópicas. Rev. Árvore 29(2):281-289.
8. Reis AMM, Grattapaglia D (2004) RAPD variation in a germplasm collection of *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), an endangered tropical tree: Recommendations for conservation. Genetic Resources and Crop Evolution. Doi: 10.1023/B:GRES.0000024159.48644.e6.
9. Santos CAF, Oliveira VR, Kiill LHP, Sá IIS (2007) Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semi-árido brasileiro. Scientia Forestalis (74):37-44.
10. Freitas MLM, Sebbenn AM, Moraes MLT, Lemos EGM (2004) Mating system of a population of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão using the AFLP molecular marker. Genet Mol Biol. Doi: 10.1590/S1415-47572004000300019.
11. Freitas MLM, Aukar APA, Sebbenn AM, Moraes MLT, Lemos EGM (2005) Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. Scientia Forestalis. (68):21-28.
12. Caetano S, Silveira P, Spichiger R, Naciri-Graven Y (2005) Identification of microsatellite markers in a neotropical seasonally dry Forest tree, *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). Mol. Ecol. Notes. 5(1):21-23.

13. Caetano S, Prado D, Pennington RT et al (2008) The history of Seasonally Dry Tropical Forests in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). *Mol. Ecol.* 13(17):3147-3159.
14. Gaino APSC, Silva AM, Moraes MA et al (2010) Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree *Myracrodruon urundeuva*. *Conserv. Genet.* 11:1631-1643.
15. Viegas, MP, Silva, CLSP, Moreira JP et al (2011) Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação *ex situ*. *Rev. Árvore* 35(4):769-779.
16. Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
17. Miller MP, Knaus BJ, Mullins TD, Haig SM (2013) SSR_pipeline: A bioinformatic infrastructure for identifying microsatellites from paired-end Illumina high-throughput DNA sequencing data. *Journal of Heredity* 104:881–885.
18. You FM, Huo N, Gu YQ et al (2008) BatchPrimer3: a high throughput web application for PCR and sequencing primer design. *BMC Bioinformatics* Doi:10.1186/1471-2105-9-253.
19. Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18:233-234.
20. Kalinowski, ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* Doi:10.1111/j.1365-294x.2007.03089.x.
21. Rousset, F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources* 8:103-106.
22. van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP, Shipley P (2004) Micro-checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. notes* 4:535–538.
23. Duan C-x, Li D-d, Sun S-l et al (2014) Rapid Development of Microsatellite Markers for *Callosobruchus chinensis* Using Illumina Paired-End Sequencing. *PLoS ONE* Doi: 10.1371/journal.pone.0095458.
24. Yang T, Fang L, Zhang X et al (2015) High-throughput development of SSR markers from pea (*Pisum sativum* L) based on next generation sequencing of a Purified Chinese commercial variety. *PLoS ONE* Doi: 10.1371/journal.pone.0139775.
25. Zhou T, Li Z-H, Bai G-Q et al (2016). Transcriptome sequencing and development of genic SSR markers of an endangered Chinese endemic genus *Dipteronia* Oliver (Aceraceae). *Molecules* Doi:10.3390/molecules21030166.

CAPÍTULO 3
DIVERSIDADE GENÉTICA, SISTEMA DE REPRODUÇÃO E COANCESTRIA EM
POPULAÇÕES FRAGMENTADAS DE *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F.
ALLEMÃO) DE DIFERENTES BIOMAS

Danilla Cristina Lemos Souza; Bruno César Rossini; Francine Beatriz de Souza;
Wanderley dos Santos; Celso Luís Marino; Alexandre Magno Sebbenn; Mario Luiz
Teixeira de Moraes

RESUMO

Frente às condições de fragmentação em que se encontram as florestas tropicais, estudos genéticos vêm sendo realizados em espécies arbóreas para um melhor entendimento do sistema de reprodução e da distribuição da diversidade genética entre e dentro de suas populações. Tais conhecimentos constituem-se em uma relevante forma de contribuição para que sejam traçadas adequadas estratégias de conservação e melhoramento e uso dessas espécies em reflorestamentos. Este trabalho foi realizado com o objetivo de estimar parâmetros genéticos populacionais e de sistema de reprodução em progênies de polinização aberta de *Myracrodruon urundeuva*, uma espécie ameaçada de extinção. A amostragem consistiu de quatro populações fragmentadas da espécie, oriundas de diferentes biomas brasileiros, analisadas a partir de seis locos microssatélites. O número total de alelos (215), o número de diferentes alelos (67) e os valores de heterozigosidades observados demonstraram que estas populações ainda conservam índices de diversidade genética consideravelmente altos. Foi detectada alta diferenciação genética entre as populações (33%), relacionada, em partes, à distância que as separam; e foi confirmado que a espécie dioica *M. urundeuva* reproduz-se por cruzamento. Estes cruzamentos não foram aleatórios nas populações, com aumento do grau de parentesco nas populações que sofreram forte pressão antrópica. Os coeficientes de coancestria dentro de progênies foram superiores ao esperado em progênies de meios-irmãos (0,125), portanto, estas progênies são constituídas também de irmãos-completos. Visando à utilização em reflorestamentos, estratégias de coleta de sementes devem ser adotadas, de modo a evitar a obtenção de sementes advindas de cruzamentos correlacionados ou endogâmicos, estabelecendo-se o valor mínimo

de coleta em 55 árvores matrizes, em cada população, de modo a garantir um tamanho efetivo de população de 150.

Palavras-chave: Aroeira, Conservação genética, Fragmentação florestal, Microsatélites.

ABSTRACT

Due to fragmentation conditions in which they are tropical forests, genetic studies have been conducted in tree species, aimed at a better understanding of the mating system and structure and genetic diversity among and within populations. The generation of this knowledge is in a relevant form of contribution to conservation and improvement and use of appropriate strategies are drawn these species in reforestation. This work was carried out in order to estimate population genetic parameters and mating system in open-pollinated progenies of *Myracrodruon urundeuva*, an endangered species. The sample consisted of four fragmented populations of species, from different Brazilian biomes, analyzed from six microsatellite loci. The total number of alleles (215), the number of different alleles (67) and the observed heterozygosity values demonstrated that these populations still retain considerably high genetic diversity indices. High genetic differentiation was detected among populations (33%), related, in part, the distance separating them; and it was observed that the species dioica *M. urundeuva* is reproduced by mating. These matings are not random in populations, with increased degree of relationship in populations with strong anthropic pressure. The coancestry coefficients within offspring were higher than expected in half-sibs offsprings (0.125), so these offsprings are also composed of full-sibs. Aiming at the use in reforestation, seed collection strategies should be adopted, in order to avoid obtaining seeds produced from related or inbred matings, establishing the minimum collection amount in 55 seed trees, in each population, so to ensure an effective population size of 150.

Keywords: Aroeira, Forest fragmentation, Genetic conservation, Microsatellites.

3.1 INTRODUÇÃO

Myracrodruon urundeuva F.F. & M.F. Allemão (aroeira-do-sertão, Anacardiaceae) é uma espécie arbórea, conhecida por sua madeira de alta densidade e durabilidade, além de seu uso farmacológico, que tem despertado interesse em diversos centros de pesquisa. É uma espécie dioica, com estratégia de polinização cruzada, realizada principalmente por abelhas, e dispersão dos diásporos por anemocoria e ornitocoria (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Suas flores são unissexuais e geralmente o fruto contém apenas uma semente (CARVALHO, 1994). Na estação seca, ocorre floração, frutificação e queda foliar, e a estação chuvosa favorece o brotamento da espécie (NUNES et al., 2008). De distribuição natural nas florestas tropicais da América do Sul, a ocorrência desta espécie estende-se de 3° 30' S (Brasil) a 25° S (Argentina), sendo também observada na Bolívia e no Paraguai, em regiões de 17 m a 1.200 m de altitude (CARVALHO, 1994). No Brasil, ocorre desde o Estado do Ceará até o Paraná e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2008), nos biomas Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga e Pantanal (CARVALHO, 1994), podendo atingir até 30 m de altura e 100 cm de diâmetro a altura do peito (NOGUEIRA, 2010).

A capacidade de uma espécie de ocupar diferentes *habitats* é um indicativo de que a mesma possa apresentar altos níveis de diversidade genética (KAGEYAMA et al, 2003). Além disso, espécies que apresentam gerações longas, sistema de reprodução por cruzamentos e autoincompatibilidade, e que ocorrem em estágios finais de sucessão, como é o caso de *M. urundeuva*, tendem a manter maiores níveis de diversidade genética em relação às espécies com outras combinações desses fatores (LOVELESS e HAMRICK, 1984). Entretanto, com a rápida fragmentação e alteração dos biomas tropicais, decorrente da expansão de atividades antrópicas nesses ambientes, associado à exploração predatória que ocorreu no passado, *M. urundeuva* foi incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção (IBAMA, 1992).

A preocupação com a conservação e manejo de espécies em caráter de raridade destacou a importância dos estudos genéticos. A diversidade genética é uma das três formas de biodiversidade reconhecidas pela União de Conservação Mundial como merecedora de conservação, pois é a matéria-prima que garante a adaptação de uma espécie sob mudança de ambientes e sua sobrevivência a longo

prazo (FERNANDO et al., 2015). O conhecimento de como a diversidade genética de uma espécie está distribuída nas populações é essencial para a sua conservação e pode ser obtido por meio do estudo em progênies, o qual permite compreender os efeitos genéticos da fragmentação florestal e corte seletivo de árvores que estão ocorrendo nas populações naturais.

O grau de diversidade genética de uma população depende, diretamente, da estrutura genética espacial intrapopulacional e do sistema de reprodução (ZHAO et al., 2014). Os marcadores moleculares do tipo microssatélites são ferramentas úteis para obtenção dessas informações, por propiciarem um alto conteúdo de informação genética e possuírem herança codominante e natureza multialélica (OLIVEIRA et al., 2006). Em estudos genéticos populacionais com *M. urundeuva*, estes marcadores foram utilizados com eficiência por Caetano et al. (2005; 2008), Gaino et al. (2010; 2011), Viegas et al. (2011) e Moraes et al. (2012). Estudos dessa natureza fornecem subsídios para o desenvolvimento de programas de conservação e melhoramento específicos às populações da espécie.

Nesse sentido, este trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer a diversidade e estrutura genética, o sistema de reprodução e a coancestria de quatro populações de *M. urundeuva*, conservadas *ex situ* na forma de testes de progênies e oriundas de diferentes biomas brasileiros, por meio de marcadores microssatélites. Especificamente, foram exploradas as seguintes questões: i) A diversidade genética é menor em populações fragmentadas? ii) A diferenciação genética entre as populações segue um padrão de isolamento por distância? iii) A redução no tamanho da população pela fragmentação afeta o sistema de reprodução da população? e iv) Qual o número de árvores-matriz para a coleta de sementes que permite fundar populações com o tamanho efetivo de 150?

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostragem e isolamento de DNA genômico

Este estudo foi realizado com progênies de quatro populações naturais fragmentadas de *M. urundeuva*, situadas em diferentes biomas: Aquidauana (AQ), estado de Mato Grosso do Sul, e Itarumã (IT), estado de Goiás, situadas em áreas com forte perturbação antrópica (áreas de pastagens e cultivo de espécies perenes),

e Paulo de Faria (PF), estado de São Paulo, e Seridó (SE), estado do Rio Grande do Norte, situadas, respectivamente, na Estação Ecológica de Paulo de Faria (EEPF) e na Estação Ecológica do Seridó (EES), áreas sem perturbação antrópica (Tabela 1).

Tabela 1. Características geográficas e número de árvores matrizes amostradas (AM) nas populações de *Myracrodruon urundeuva*.

População	Bioma	Latitude	Longitude	Altitude (m)	AM
AQ-MS	AT ¹ -Cerrado e Pantanal	20° 28' S'	56° 59' W'	147	60
IT-GO	Cerrado	18° 44' S	51° 13' W	480	30
PF-SP	Mata Atlântica ²	19° 58' S	49° 32' W	495	30
SE-RN	Caatinga	6° 66' S	37° 40' W	160	12

AT¹: área de transição; ²Floresta Estacional Semidecidual.

Sementes de polinização aberta dessas populações foram coletadas para constituir o banco de conservação genética *ex situ* de *M. urundeuva* da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, da Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira (FEIS/UNESP – 20° 18' S e 52° 40' W, altitude de 340 m), localizado no município de Selvíria, estado de Mato Grosso do Sul. As progênies foram estabelecidas sob a forma de testes de progênies, em delineamento experimental de blocos ao acaso (Tabela 2).

Tabela 2. Características dos testes de progênies de *Myracrodruon urundeuva* e número total de plantas amostradas (n).

População	Instalação	Rep	AP	Espaçamento (m)	n
AQ-MS	12/2010	43	1	3,0 x 3,0	360
IT-GO	06/2004	12	3	2,0 x 6,0	360
PF-SP	04/1997	3	10	3,0 x 1,5	360
SE-RN	04/1997	6	10	3,0 x 1,5	144

Rep: número de repetições; AP: número de árvores por parcela linear.

Para efeito de isolamento do DNA genômico, foram amostrados, ao acaso, 12 indivíduos de cada progênie das populações de estudo, totalizando 1.224 indivíduos (na população de AQ foram estudadas 30 progênies). Nas populações de AQ, IT e SE, o DNA foi isolado de folhas, e na população de PF foi isolado do câmbio, empregando-se o protocolo com CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990). As amostras de DNA foram reproduzidas em géis de agarose 1%, em corrida com TBE (1X), com tensão constante de 120V, durante 1 h (Figura 1). A qualidade e a concentração de

DNA de cada amostra foram determinadas em espectrofotômetro (NanoDrop 2000/2000c), com base na absorbância a 260 e 280 nm. Foi utilizada a concentração final de 50 ng/μl para cada amostra.

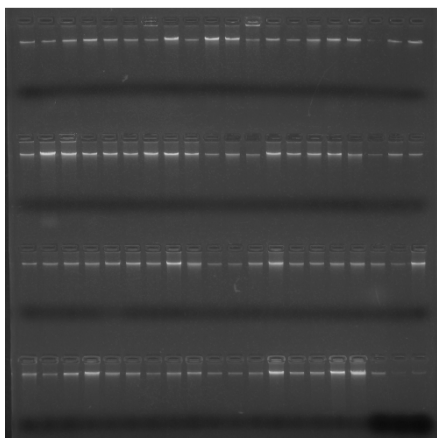


Figura 1. DNA genômico de indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* da população de Aquidauana.

3.2.2 Reações de amplificação de locos microssatélites e genotipagem

Para a análise de polimorfismo em *M. urundeuva*, foram utilizados seis locos microssatélites: Aro10, Aro12, Aro17, Aro18, Aro19 e Aro20 (SOUZA et al., dados não publicados). Cada amostra foi preparada para um volume final de 10 μl contendo: 1 μl de DNA; 5μl de GoTaqColorless Master Mix; 0,25 μl do *primer* Forward; 0,25 μl do *primer* Reverse; 0,3 μl do *primer* contendo a cauda M13 (FAM, VIC, PET ou NED) e; 3,2 μl de água ultrapura autoclavada. As reações de PCR, utilizadas para amplificação de regiões microssatélites, foram realizadas em termocicladores *Eppendorf* e consistiram de: um ciclo de 94° C por 5 min; 35 ciclos de 94° C durante 1 min, temperatura de anelamento do *primer* (SOUZA et al., dados não publicados) durante 1 min e 30 seg, e 72° C durante 1 min; 12 ciclos de 94° C por 30 seg, 53° C por 1 min e 30 seg, e 72° C por 1 min; e um ciclo final a 72° C durante 5 min. Os produtos da amplificação (1,0 μl de cada amostra) foram dispostos em multiplex de até quatro locos distintos, com adição de 0,25 μl de Gene Scan LIZ (marcador de peso molecular conhecido) e complementação com formamida Hi Di para o volume final 10 μl de solução. Os locos multiplex foram desnaturadas a 94 °C durante 4 min e genotipados em sequenciador automático ABI

3130xl (Applied Biosystems). A identificação dos alelos se deu por meio do programa GeneMapper® v.5.0.

3.2.3 Análise dos dados

3.2.3.1 Diversidade genética e índice de fixação

A diversidade genética de cada população foi estimada agrupando-se todas as progênies, para cada loco e a média entre locos, para os seguintes índices: número total de alelos por loco (k), riqueza alélica (R), utilizando-se rarefação (EL-MOUSADIK; PETIT, 1996), e heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e), em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os alelos foram também classificados em dois grupos de acordo com suas frequências nas populações: a) alelos privados (ocorrentes em apenas umas das populações) e b) alelos raros ($P \leq 0,05$). Os níveis de endogamia dentro das amostras foram quantificados pelo índice de fixação médio entre progênies (F), por meio do método de Weir e Cockerham (1984). A significância estatística dos valores de F foi testada por permutação de alelos entre indivíduos (1.000), utilizando uma correção para *Bonferroni* (95%, $\alpha = 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o programa FSTAT, v.2.9.3.2 (GOUDET, 2002).

3.2.3.2 Estrutura genética

Como a amostra utilizada estava estruturada em progênies maternas, a diferenciação genética entre as populações foi investigada utilizando-se as frequências gênicas estimadas para o pólen, visto que as frequências alélicas estimadas em estruturas de progênies são sempre superestimadas para os alelos maternos, dado que as sementes sempre recebem um dos alelos da mãe, no caso de espécies obrigatoriamente de cruzamento, como *M. urundeuva* que é dioica. Como as progênies são de polinização aberta, estas podem conter mais alelos do que as árvores matrizes em que foram coletadas as sementes. Assim, utilizou-se a frequência do pólen para representar as frequências alélicas das populações, as

quais foram obtidas utilizando o programa “Multilocus MLTR”, v.2.4. (RITLAND, 2002). Para medir a diferenciação genética entre todas as populações e pares de populações, foi empregado o método desenvolvido para locos microssatélites por Hedrick (2005) e a estatística G'_{ST} . A significância estatística dos valores G'_{ST} foi testada utilizando-se a reamostragem *Jackknife* entre os locos. Para investigar se existia um padrão de isolamento por distância, uma regressão linear foi feita entre o G'_{ST} estimado entre pares de populações [$G'_{ST} / (1 - G'_{ST})$] sobre o logaritmo linear da distância entre populações (lnD).

3.2.3.3 Sistema de reprodução

As análises do sistema de reprodução foram baseadas nos modelos misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989), e as estimativas foram obtidas com o uso do programa “Multilocus MLTR”, v.2.4. (RITLAND, 2002). As análises foram realizadas em nível populacional, por meio do método de máxima verossimilhança EM (Maximization Expectation). Os índices estimados foram: índice de fixação em árvores-matriz (F_m), taxa de cruzamento multiloco (t_m), taxa de cruzamento uniloco (t_s), taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_s$) e correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). Os erros padrões foram obtidos por 1.000 reamostragens *bootstraps*, sendo as progênie as unidades de reamostragens.

3.2.3.4 Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes

Os índices do sistema de reprodução foram utilizados para estimar outros parâmetros demográficos e genéticos: o número efetivo de doadores de pólen ($N_{ep} = 1/r_{p(m)}$) e o coeficiente médio de coancestria (Θ) entre plantas dentro de progênie, calculado pela seguinte expressão:

$$\Theta = 0,125(1 + F_m)(1 + r_{p(m)}) \quad (\text{SOUSA et al., 2005})$$

A representatividade genética das progênie foi estimada pelo tamanho efetivo médio dentro de progênie (N_e):

$$\hat{N}_e = \frac{0.5}{\left[\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_o}{2n} \right]} \quad (\text{com base em COCKERHAM, 1969})$$

em que: n é o tamanho amostral e F_o é o índice de fixação dentro de progênies.

O número de árvores-matriz (m) para a coleta de sementes foi calculado assumindo que o objetivo é reter, na amostra total, o tamanho efetivo de referência ($N_{e(\text{referência})}$) de 150. Assim, este parâmetro foi obtido por meio da expressão:

$$m = N_{e(\text{referência})} / N_e \quad (\text{SEBBENN, 2006})$$

Os intervalos de confiança a 95% de probabilidade foram estimados por 1.000 reamostragens *bootstraps*.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Diversidade genética e índice de fixação

Para amostra total de 1.224 indivíduos genotipados, para seis locos microssatélites, foram detectados 67 diferentes alelos, variando entre locos de 5 a 15 alelos, com média de 11,2 alelos por loco. Nas quatro populações, 52 alelos, em pelo menos uma população, foram observados como raros (frequência < 0,05) e nove como privados, ou seja, que ocorrem em apenas uma das populações (Tabela 3).

Tabela 3. Frequências alélicas dos locos microssatélites das populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Locos	Alelos	AQ	IT	PF	SE
ARO10	179	0,001*	0,001*	0	0
	182	0,001*	0,001*	0	0
	185	0,006*	0,009*	0,006*	0,007*
	188	0,028*	0,090	0,130	0
	191	0,001*	0,006*	0,004*	0
	194	0,150	0,087	0,021*	0,021*
	197	0,064	0,075	0,072	0,304
	200	0,045*	0,030*	0,154	0
	203	0,085	0,402	0,164	0,014*
	206	0,057	0,019*	0,037*	0
	209	0,472	0,205	0,363	0,518
	212	0,089	0,075	0,048*	0,114
	215	0	0	0	0,021*•
ARO12	174	0,003*	0,001*	0,001*	0,004*
	180	0	0	0,001*•	0
	183	0,003*	0	0,013*	0,016*
	186	0	0	0,004*	0,027*
	189	0,082	0,040*	0,167	0,186
	192	0,050*	0,066	0,039*	0,016*
	195	0,033*	0,049*	0,028*	0,074
	198	0,038*	0,059	0,058	0,004*
	201	0,241	0,297	0,318	0,384
	204	0,244	0,149	0,190	0,112
	207	0,144	0,162	0,067	0,151
	210	0,119	0,043*	0,058	0,023*
	213	0,026*	0,003*	0,015*	0
	219	0,012*	0,117	0,032*	0
	222	0,005*	0,014*	0,007*	0,004*
ARO17	180	0	0,015*	0,006*	0,076
	184	0,029*	0,104	0,091	0,079
	192	0,251	0,100	0,096	0
	196	0,025*	0,107	0,102	0,396
	200	0,228	0,332	0,355	0,374
	204	0,006*	0,032*	0,003*	0,004*
	208	0,455	0,307	0,345	0,072
	212	0,003*	0,003*	0,001*	0
	216	0,003*	0	0,001*	0
ARO18	214	0,001*•	0	0	0
	253	0,192	0,131	0,178	0,915
	257	0,074	0,080	0,088	0,031*
	261	0,220	0,276	0,440	0,008*

Tabela 3 (Cont...)

Locos	Alelos	AQ	IT	PF	SE
ARO18	265	0,341	0,310	0,212	0,019
	269	0,097	0,087	0,060	0,016*
	273	0,013*	0,091	0,010*	0,004*
	277	0,033*	0,009*	0	0
	281	0,024*	0,007*	0	0
	285	0,004*	0,009*	0	0,008*
	289	0	0	0,011*•	0
ARO19	202	0,001*	0,003*	0	0,004*
	206	0,104	0,034*	0,036*	0,026*
	210	0	0	0	0,007*•
	214	0,259	0,314	0,193	0,185
	218	0,006*	0,006*	0,006*	0,011*
	222	0,215	0,118	0,214	0,163
	226	0	0,001*•	0	0
	230	0,415	0,521	0,552	0,596
	234	0	0,001*•	0	0
	238	0	0	0	0,007*•
	242	0	0,001*•	0	0
ARO20	165	0,090	0,052	0,082	0,012*
	169	0,125	0,144	0,105	0,020*
	173	0,062	0	0,037*	0,008*
	177	0,202	0,116	0,089	0,332
	181	0,403	0,663	0,442	0,576
	185	0,097	0,014*	0,115	0,032*
	189	0,010*	0,003*	0,118	0,020*
	193	0,011*	0,007*	0,013*	0

* alelos raros ($P \leq 0,05$); • alelos privados.

O número total de alelos foi de 57 para as populações de AQ e IT, 54 alelos para PF e 47 para SE (Tabela 12). Os valores médios observados para riqueza alélica (R), em todas as populações foram próximos aos valores médios do número de alelos por loco, e semelhantes entre as populações de AQ, IT e PF. A heterozigosidade média observada (H_o) foi semelhante para as populações de AQ (0,749), IT (0,724) e PF (0,737), e significativamente menor para SE (0,537). O mesmo ocorreu para heterozigosidade média esperada (H_e): AQ= 0,749; IT= 0,716; PF= 0,737; e SE= 0,567. Não houve diferença significativa entre as médias de heterozigosidades observada e esperada, para cada população, inferindo em equilíbrio no número de indivíduos heterozigóticos. O índice de fixação médio (F),

em todas as populações de *M. urundeuva*, não diferiu estatisticamente de zero ($P < 0,05$), o que sugere ausência de endogamia (Tabela 4).

Tabela 4. Diversidade genética e índice de fixação (F), por locos microssatélites, em populações de *Myracrodruon urundeuva*: n é o tamanho amostral; k é o número total de alelos; R é a riqueza alélica; H_o e H_e são as heterozigosidades observada e esperada, respectivamente.

Loco	AQ ($n= 360$)					IT ($n= 360$)				
	k	R	H_o	H_e	F	k	R	H_o	H_e	F
Aro10	12	9,93	0,822	0,730	-0,122*	12	10,47	0,682	0,769	0,111*
Aro12	13	12,15	0,580	0,837	0,298*	12	10,94	0,766	0,837	0,083*
Aro17	8	7,03	0,870	0,677	-0,282*	8	7,61	0,897	0,763	0,172*
Aro18	10	9,11	0,774	0,783	0,012	9	8,75	0,709	0,789	0,102*
Aro19	6	5,20	0,872	0,705	-0,243*	9	6,48	0,832	0,615	0,353*
Aro20	8	7,92	0,574	0,761	0,247*	7	6,46	0,458	0,524	0,135*
Média	9,5	8,56	0,749	0,749	-0,001	9,5	8,45	0,724	0,716	-0,010
DP	2,7	2,41	0,138	0,057	0,246	2,1	1,95	0,152	0,120	0,200
Total	57	-	-	-	-	57	-	-	-	-
Loco	PF ($n= 360$)					SE ($n= 144$)				
	k	R	H_o	H_e	F	k	R	H_o	H_e	F
Aro10	10	9,56	0,747	0,792	0,053	7	6,99	0,768	0,627	0,230*
Aro12	15	13,34	0,694	0,821	0,154*	12	11,91	0,674	0,779	0,134
Aro17	9	7,14	0,960	0,728	-0,318*	6	5,90	0,807	0,688	0,171*
Aro18	7	6,92	0,664	0,719	0,075	7	6,97	0,060	0,163	0,619*
Aro19	5	4,82	0,710	0,612	-0,163*	8	7,92	0,657	0,585	-0,141
Aro20	8	7,98	0,649	0,752	0,137*	7	7,00	0,259	0,559	0,557*
Média	9,0	8,29	0,737	0,737	-0,002	7,8	7,78	0,537	0,567	0,051
DP	3,4	2,91	0,114	0,073	0,189	2,1	2,12	0,305	0,213	0,378
Total	54	-	-	-	-	47	-	-	-	-

* $P \leq 0,05$.

3.3.2 Estrutura genética

A diferenciação nas frequências alélicas para o conjunto de populações (G'_{ST}) foi significativamente ($P \leq 0,05$) maior do que zero e alta (0,326), o que indica que aproximadamente 67% da diversidade genética encontra-se distribuída dentro das populações (Tabela 5). A diferenciação genética entre pares de populações sugere o modelo de isolamento por distância ($r^2 = 0,926$); quanto maior a distância geográfica, maior a diferenciação entre elas (Tabela 5; Figura 2).

Tabela 5. Diferenciação genética (G'_{ST}) e distância geográfica entre pares a para todas as populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Pares de populações	$G'_{ST} \pm 2SE$	Distância (Km)
AQ X IT	$0,204 \pm 0,094^*$	502
AQ X PF	$0,165 \pm 0,080^*$	670
AQ X SE	$0,326 \pm 0,168^*$	2.510
IT X PF	$0,118 \pm 0,031^*$	251
IT X SE	$0,288 \pm 0,196^*$	2.000
PF X SE	$0,291 \pm 0,182^*$	2.156
Todas as populações	$0,326 \pm 0,118^*$	--

* $P \leq 0,05$; SE é o erro padrão.

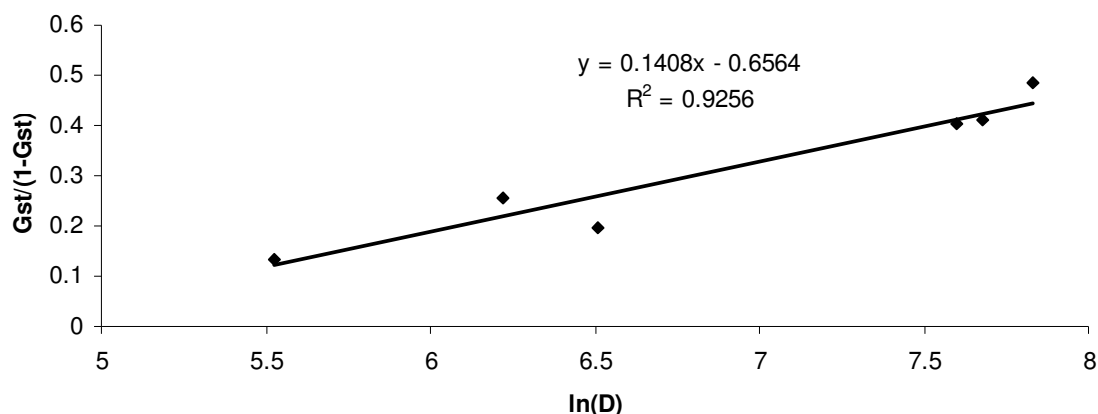


Figura 2. Regressão da diferenciação genética [$G'_{ST}/(1-G'_{ST})$] e o logaritmo da distância [$\ln(D)$] entre pares de populações de *Myracrodruon urundeuva*.

3.3.3 Sistema de reprodução

O índice de fixação nas árvores matrizes (F_m) foi significativamente menor do que zero, indicando excesso de heterozigotos (Tabela 14). As estimativas da taxa de cruzamento multiloco (t_m), para todas as populações não diferiram significativamente de 1,0, como esperado para espécies dioicas, como *M. urundeuva*. As taxas de cruzamento uniloco (t_s) foram significativamente menores do que a unidade. As taxas de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_s$), apesar de baixas foram significativamente maiores do que zero, sendo o valor mais expressivo para população de SE (0,073). As correlações de paternidade multiloco ($r_{p(m)}$) foram significativamente maiores de zero, variando de 0,084 (PF) a 0,222 (AQ), indicando que as progênes são compostas por misturas de meios-irmãos e irmãos-completos. O número efetivo de doadores de pólen variou de 4,5 a 11,9.

3.3.4 Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes

O coeficiente de coancestria dentro de progênes (Θ) variou de 0,136 (PF) a 0,153 (AQ), logo, os valores são superiores ao esperado em progênes de meios-irmãos (0,125), resultando em um tamanho efetivo de variância (N_e) menor que o esperado em populações panmíticas (4). Para se obter lotes de sementes com um tamanho efetivo de 150 é necessário coletar sementes em pelo menos 55 árvores matrizes (Tabela 6).

Tabela 6. Estimativas de índices do sistema de reprodução em populações de *Myracrodruon urundeuva*.

Índices	AQ	IT	PF	SE
Índice de fixação em árvores-matriz: F_m	-0,200 (-0,200/-0,196) ^{IC}	-0,200 (-0,200/-0,187) ^{IC}	-0,174 (-0,200/-0,131) ^{IC}	-0,200 (-0,200/-0,200) ^{IC}
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,990 (0,977/1,000) ^{IC}	0,995 (0,985/1,000) ^{IC}	0,998 (0,987/1,000) ^{IC}	0,984 (0,955/1,000) ^{IC}
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,943 (0,919/0,975) ^{IC}	0,970 (0,940/1,000) ^{IC}	0,956 (0,923/0,996) ^{IC}	0,911 (0,872/0,982) ^{IC}
Taxa de cruzamento entre parentes: t_m-t_s	0,047 (0,025/0,081) ^{IC}	0,025 (0,045/0,194) ^{IC}	0,042 (0,021/0,079) ^{IC}	0,073 (0,018/0,128) ^{IC}
Correlação de paternidade multiloco: $r_{p(m)}$	0,222 (0,124/0,278) ^{IC}	0,184 (0,118/0,215) ^{IC}	0,084 (0,046/0,104) ^{IC}	0,146 (0,044/0,162) ^{IC}
Número efetivo de doadores de pólen: N_{ep}	4,5 (3,6-8,1) ^{IC}	5,4 (4,7-8,5) ^{IC}	11,9 (9,6-21,7) ^{IC}	6,8 (6,2-22,7) ^{IC}
Coeficiente de coancestria dentro de progênies: Θ	0,153 (0,141-0,160) ^{IC}	0,148 (0,140-0,152) ^{IC}	0,136 (0,131-0,138) ^{IC}	0,143 (0,131-0,145) ^{IC}
Tamanho efetivo de variância: N_e	2,75 (2,66-2,93) ^{IC}	2,82 (0,276-0,295) ^{IC}	3,13 (2,97-3,20) ^{IC}	2,89 (2,86-3,10) ^{IC}
Número de matrizes para coleta de sementes: m	55 (51-56) ^{IC}	53 (51-54) ^{IC}	48 (46-50) ^{IC}	52 (48-52) ^{IC}

^{IC} Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, ambos estimados por 1.000 reamostragens *bootstraps*.

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Diversidade genética e índice de fixação

Apesar das progênies que compõem as populações serem advindas de áreas fragmentadas, as quatro populações de estudo de *M. urundeuva* ainda conservam índices de diversidade genética consideravelmente altos, evidenciados pelo número total de alelos detectados em cada loco (variando de 47 a 57). O elevado número de alelos e a riqueza alélica notados, no presente estudo, denotam a ocorrência de alta diversidade genética e alto conteúdo informativo dos locos microssatélites utilizados.

Os níveis elevados de diversidade genética observados nas populações de *M. urundeuva* podem ser decorrentes da biologia reprodutiva da espécie: espécie dioica, logo de polinização cruzada, realizada principalmente por abelhas (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Em espécies tropicais, a dispersão de pólen realizada por pequenos insetos, geralmente, alcança curtas distâncias, com maior parte dos cruzamentos entre os vizinhos mais próximos (LACERDA et al., 2008; CARNEIRO et al., 2009; KAMM et al., 2009; DEGEN; SEBBENN, 2014). Ao estudar a dispersão de pólen na EEPF, em *M. urundeuva*, Gaino et al. (2010) observaram padrão de forrageamento das abelhas em pequenas áreas (média de 200 m) e outras abelhas com tendência a transportar pólen entre apenas uma ou algumas árvores adjacentes, uma vez que a alta densidade vegetal limita o movimento destes insetos. A fragmentação florestal, porém, pode mudar esse padrão de cruzamento mais próximo, pois o isolamento de árvores promove a polinização de árvores distantes (KWAK et al., 1998; DICK et al., 2003; SILVA et al., 2008; HADLEY e BETTS, 2012; DEGEN; SEBBENN, 2014). Sork; Smouse (2006) sugerem que em casos de espécies com polinizadores especializados e fluxo gênico mantido a longas distâncias a fragmentação e o isolamento espacial não impedem que novas recombinações genéticas ocorram, de modo a ampliar e manter a diversidade genética das populações.

A presença de alelos privados e raros, nas populações, é importante para o estabelecimento de estratégias de conservação de espécies arbóreas. Nesse trabalho, foram detectados alelos privados (AQ-1, IT-3, PF-2 e SE-3) e altos percentuais de alelos raros (AQ= 49%, IT= 47,5%, PF= 44,5% e SE= 57,5%), em

todas as populações (Tabela 11). Alelos privados sugerem fluxo gênico restrito entre populações (SEOANE et al., 2000), ou seja, alelos presentes em populações distantes entre si. Como esse estudo se deu em populações de diferentes biomas, os alelos privados, aqui observados, podem ser inerentes a cada um dos biomas, de modo a conferir alguma vantagem adaptativa para a espécie e suas populações, o que torna importante o estudo de outras populações dos referidos biomas, utilizando-se os mesmos locos microssatélites desse trabalho. Alelos raros implicam o comprometimento com a perda de diversidade genética, pela atuação de deriva genética. A porcentagem de alelos perdidos é um indicativo da perda de diversidade genética em populações advindas de fragmentação (JUMP; PEÑUELAS, 2006; VIEGAS et al., 2011). Assim, a necessidade de conservação dessas populações é eminente, uma vez que muitos alelos raros podem ser perdidos nas próximas gerações.

Os altos valores obtidos para as heterozigosidades também são indicativos de alta diversidade genética nas populações, possibilitando sua exploração em programas de conservação e melhoramento, uma vez que proporcionam a existência de novas combinações genotípicas. Porém, a percepção de alterações nesse índice é mais sensível quando se dá um número maior de gerações após a fragmentação (FUTUYMA, 2002). Quando ocorre diminuição no tamanho populacional, mesmo que o número de alelos também seja reduzido, a heterozigosidade pode permanecer tão alta quanto na população original, pois, na maioria das vezes, os alelos perdidos por deriva são os raros, os quais contribuem pouco para o nível de heterozigosidade da população (NEI, 1975). Em alguns estudos, é discutida a falta de evidências para redução da diversidade genética em fragmentos florestais, decorrente do pequeno número de gerações que se desenvolveram após isolamento (AGUILAR et al., 2008; KRAMER et al., 2008; GAINO et al., 2010).

A população de SE apresentou menor valor de heterozigosidades, o que pode ter ocorrido devido ao menor número de progênies amostradas nessa população. O tamanho da população tem efeito sobre a diversidade genética, sugerindo que populações pequenas, consistentemente, apresentam diversidade genética significativamente menor que grandes populações (LEIMU et al., 2006; AGUILAR et al., 2008; HMELJEVSKI et al., 2011), pois são mais propensas à estocasticidade demográfica e genética (HMELJEVSKI et al., 2011).

O índice de fixação médio foi negativo para a maioria das populações e não diferiu significativamente de zero, o que permite inferir que estas progênies não são endogâmicas, embora alguns indivíduos possam ter sido originados de cruzamentos entre indivíduos parentes dentro das populações.

Apesar de detectada alta diversidade genética nas populações de *M. urundeuva*, há possibilidade de a deriva genética estar atuando, inclusive com perda de alelos. Além disso, deve-se considerar que os resultados, aqui apresentados, refletem a situação genética das populações em seus respectivos períodos de coletas de sementes (VIEGAS et al., 2011). Se populações fragmentadas permanecem isoladas e pequenas por muitas gerações, em longo prazo, poderão ocorrer cruzamentos endogâmicos. Ainda, atenção especial deve ser voltada para a população originária do bioma Caatinga (SE), com vista à sua conservação. A Caatinga, por responder com maior sensibilidade, está entre os biomas mais vulneráveis a variações climáticas do mundo. Assim, outras práticas conservacionistas para esta população necessitam ser adotadas, uma vez que se tem conhecimento do tamanho do impacto que a mudança climática causará sobre a diversidade e riqueza de espécies vegetais da Caatinga, podendo ocorrer extinções em massa, em algumas regiões (SEDDON et al., 2016), ou perda de alelos privados e raros das populações.

3.4.2 Estrutura genética

Espécies arbóreas tropicais, geralmente, apresentam alta diversidade genética dentro das populações e exibem menor variação entre elas, particularmente nas espécies com sistemas de cruzamento ao acaso e dispersão de pólen por animais e sementes dispersas pelo vento (HAMRICK et al., 1993). A diversidade genética mantida dentro e entre populações, porém, é afetada por eventos históricos e processos evolutivos recentes (LEE et al., 2002). Ao considerar a elevada distância que separa as populações deste estudo (as populações mais próximas distam ~ 250 km entre si) e por se tratarem de populações oriundas de diferentes biomas, a alta diferenciação genética detectada entre as populações (32,6%) era esperada. Os biomas são formações complexas que compreendem diversos tipos de habitat (HOFFMANN; FRANCO, 2008), e plantas que ocupam diferentes formações

florestais, como é o caso da *M. urundeuva*, frequentemente, apresentam genes adaptados a ambientes específicos, devido ao processo de colonização e às dinâmicas populacionais dos mesmos. Associado a isto, a fragmentação pela qual estas populações passaram pode ter promovido a atuação da deriva genética, contribuindo para a existência de estruturação.

Os valores de diferenciação genética apresentados entre a população de SE e as demais foram mais elevados para este índice, devido ao fato desta situar-se muito mais afastada geograficamente. Assim, observa-se um padrão de isolamento por distância, com exceção para as populações de AQ, IT e PF, em que a distância geográfica não foi diretamente proporcional ao nível de diferenciação entre elas, inferindo que, mesmo para as mais distantes entre si (AQ X PF), o grau de isolamento que os indivíduos encontram-se é menor que nas populações mais próximas (AQ X IT). Isso pode estar associado à presença de fragmentos florestais entre essas populações. Além disso, esta maior diferenciação genética observada entre as populações de AQ e IT pode ser resultado do intenso processo de fragmentação a que foram sujeitas.

3.4.3 Sistema de reprodução

A estimativa das taxas de cruzamento multilocos confirma que a espécie é dioica e produz sementes apenas por cruzamentos. Este resultado já foi previamente confirmado em outros estudos do sistema de reprodução da espécie, com base em marcadores genéticos (MORAES et al., 2004; GAINO et al., 2011). Cruzamentos favorecem a manutenção e ampliação da diversidade genética nas populações, devido à recombinação de genótipos, que é necessária à manutenção da viabilidade evolutiva das populações, bem como para o melhoramento genético (MANOEL et al., 2012). Contudo, observou-se que parte destes cruzamentos ocorreu entre indivíduos parentes. A população de SE apresentou a maior estimativa, com 7,3% de cruzamentos dessa natureza. Ao estudar esta mesma população, a partir de oito locos microssatélites diferentes dos aqui utilizados, Moraes et al. (2012) observaram 12% de cruzamentos entre parentes, e o associaram à possibilidade de haver alta taxa de parentesco entre as plantas dentro da população, devido a existência de estruturação genética espacial intrapopulacional. Estudos de estrutura

genética espacial em populações de *M. urundeuva* indicam que árvores próximas são, geralmente, parentes entre si, devido à dispersão de sementes e regeneração próximas as árvores maternas (MORAES et al., 2005; GAINO et al., 2010). Embora seus efeitos sejam mais brandos do que na autofecundação, o cruzamento entre parentes também produz endogamia nas populações, o que pode resultar em depressão por endogamia, que é mais grave em espécies de cruzamento que, naturalmente, mantêm altos níveis de genes deletérios (NASON; HAMRICK, 1997).

A correlação de paternidade mede a proporção de indivíduos de cruzamentos que foram gerados pelos mesmos genitores, ou seja, que são irmãos-completos (RITLAND, 1989). Isso significa que parte das sementes produzidas por uma única árvore é originada a partir de uma pequena população reprodutiva, com pólen advindo de poucos genitores (SEBBENN, 2006). No presente estudo, essa situação foi mais evidente para população de AQ, com 22,2% de suas progênies parentes no grau de irmãos-completos, seguida das populações de IT (18,4%), SE (14,6%) e PF (8,4%). Diferentes graus de parentesco também foram observados em outras estudos com *M. urundeuva* (MORAES et al., 2004, FREITAS et al., 2005; GAINO et al., 2011; MORAES et al., 2012), bem como em outras espécies arbóreas de sistema de reprodução por cruzamentos (SILVA et al., 2008; TAMAKI et al., 2009; SILVA et al., 2011; MANOEL et al., 2015).

Análises do sistema de reprodução têm mostrado variações nas taxas de cruzamentos correlacionados entre populações de uma mesma espécie, que podem ser atribuídas às condições climáticas dos habitat, pois estas influenciam no comportamento e/ou na densidade das populações de polinizadores (MURAWSKI; HAMRICK, 1991). Nunes et al. (2008), estudando os aspectos ecológicos relacionados à fenologia de *M. urundeuva*, observaram que sua reprodução é diretamente influenciada pela temperatura e precipitação. Além disso, mudanças na paisagem, tais como corte seletivo de espécies arbóreas, desmatamento, uso da terra para culturas agrícolas etc. também afetam a dinâmica dos polinizadores (LOWE et al., 2005; SILVA et al., 2008). Assim, maiores estimativas de correlação de paternidade para as populações de AQ e IT, de certa forma, eram esperadas, devido ao alto grau de antropização de suas populações naturais. Em contraste, as populações de SE e PF encontram-se em áreas protegidas.

Os valores obtidos para as estimativas do número efetivo de doadores de pólen (4,5–11,9) foram relativamente baixos e semelhantes aos obtidos em *M. urundeuva*

(GAINO et al., 2011; MORAES et al., 2012), com exceção da população de PF, que apresentou estimativa bem superior às demais populações de estudo e também superior à obtida por Gaino et al. (2011) (6,8), na mesma população, porém utilizando outros locos microssatélites e maior amostragem. Esses últimos autores associaram o alto número de doadores eficazes de pólen a três fatores: o tamanho da população relativamente grande (470 árvores); frutos portadores de uma única semente; e o provável número elevado de abelhas polinizadoras de *M. urundeuva*.

3.4.4 Coancestria, tamanho efetivo populacional e número de matrizes para coleta de sementes

O parentesco de uma geração, quando medido em termos de coancestria, corresponde à endogamia que pode ser gerada na descendência, se os indivíduos forem cruzados (MORAES et al., 2005). Assim, estimar coancestria assume importância direta para atividade de colheita de sementes para reflorestamentos, conservação e melhoramento genético. Em espécies dioicas, o parentesco dentro de progênes de polinização aberta pode ser composto por misturas de meios-irmãos e irmãos-completos, dependendo de como ocorreu a polinização, se foi aleatória ou correlacionada (VIEGAS et al., 2011). O valor esperado para o coeficiente de coancestria dentro de progênes, em populações sob panmixia, é 0,125, que significa a existência de cruzamentos perfeitamente aleatórios entre um grande número de indivíduos não parentes e não endogâmicos. Nesse estudo, a combinação observada de cruzamento entre parentes e cruzamentos correlacionados aumentou a coancestria, pois aumenta a identidade por descendência dos alelos dentro das progênes, e diminuiu o tamanho efetivo da população (SEBBENN, 2006). Assim, os valores obtidos para o coeficiente de coancestria foram superiores, com variação de 0,136 (PF) a 0,153 (AQ), e o tamanho efetivo de variância foi inferior ao esperado em progênes de populações idealizadas, que corresponde a quatro, com variação de 2,75 (AQ) a 3,13 (PF). Estes resultados confirmam que as plantas dentro das progênes não são compostas puramente por meios-irmãos e que ocorreram desvios de cruzamentos aleatórios. Assim, para se coletar sementes nessas populações, deve-se obter sementes de, pelo menos, 55 árvores matrizes na população de AQ, 53 em IT, 48 em PF e 52 na

população de SE, o que garantirá um tamanho efetivo de população de 150 (SEBBENN, 2006). É importante ressaltar que se deve evitar a coleta em árvores próximas.

3.5 CONCLUSÃO

Por ainda manterem altos níveis de diversidade genética, as população de *M. urundeuva* estudadas apresentam potencial para uso em reflorestamentos e programas de melhoramento genético. Para tanto, a existência de grande número de alelos que ocorrem em baixa frequência deve ser levada em consideração, de modo que seja possível a obtenção de amostras representativas da diversidade genética existente (atenção contra perda de alelos raros). A diferenciação genética entre as populações segue um padrão de isolamento por distância e a reprodução por cruzamentos foi confirmada, embora ocorressem cruzamentos entre parentes e cruzamentos correlacionados. O coeficiente de coancestria dentro de progênies é variável entre as populações, decorrente dos diferentes graus de antropização a que as populações foram submetidas. Visando à utilização dessas populações em reflorestamentos, deve-se obter sementes de pelo menos 55 árvores matrizes de cada uma delas e mudas com possíveis defeitos genéticos decorrentes da endogamia não devem ser utilizadas.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOCO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, Oxford, v.17, n.24, p.5177–5188, 2008.
- 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.; DEGEN, B.; KANASHIRO, M.; LACERDA, A.E.B.; SEBBENN, A.M. High levels of pollen dispersal in *Symphonia globulifera* in a dense Brazilian Amazon forest revealed by paternity analysis. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v.258, p.1260–1266, 2009.
- CARVALHO, P.E.R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira*. Colombo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisas Florestais, 1994. 640p.
- COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. *Evolution*, Lancaster, v.23, n.1, p.72-84, 1969.
- DEGEN, B.; SEBBENN, A. M. Genetics and tropical forests. In: *Tropical forestry handbook*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014, 30p.
- DICK, C.W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of Neotropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and Africa honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. *Molecular Ecology*, Oxford, v.12, p.753–764, 2003.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, Rockville v.12, p.13-15, 1990.
- EL MOUSADIK, A.; PETIT, R. J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Arginiaspinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.92, p.832-839, 1996.
- FERNANDO, D.D.; DISCENZA, J.J.; BOUCHARD, J.R.; LEOPOLD, D.J. Genetic analysis of the threatened American hart's-tongue fern (*Asplenium scolopendrium* var. *americanum* [Fernald] Kartesz and Gandhi): Insights into its mating system and

implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, Oxford, v.62, p.25-35, 2015.

FREITAS, M.L.M.; AUKAR, A.P.A; 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.

FUTUYMA, D. J. *Biologia evolutiva*. 2 ed. Ribeirão Preto: FUNPEC –RP, 2002, 631p.

GAINO, A.P.S.C.; 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* (Anarcadiaceae): implications for conservation genetics. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.34, n. 4, p. 545-551, 2011.

GAINO, A.P.S.C.; 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 *Myracrodruon urundeuva*. *Conservation Genetics*, Dordrecht, v.11, p.1631-1643, 2010.

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, 2002.

HADLEY, A.S.; BETTS, M.G. The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: absence of evidence not evidence of absence. *Biological Reviews*. London, v.87, n.3, p.526–544, 2012.

HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A.; NASON, J.D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetation*, Amsterdã, v.107, n.1; p.281-297, 1993.

HEDRICK, F. A standardized genetic differentiation measured. *Evolution*, Lancaster, v.59, p.1633-1638, 2005.

HMELJEVSKI, K.V.; REIS, A.; MONTAGNA, T.; REIS, M.S. Genetic diversity, genetic drift and mixed mating system in small subpopulations of *Dyckia ibiramensis*, a rare endemic bromeliad from Southern Brazil. *Conservation Genetics*, Dordrecht, v.12, n.3, p.761-769, 2011.

HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from cerrados and forests of central Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v.20, n.3, p.247-256, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. *Diário Oficial*, Brasília, 23 de jan. de 1992. p.169-173.

JUMP, A.S.; PENUELAS, J. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, Washington, v.103, p.8096-8100, 2006.

KAGEYAMA, P.Y.; CUNHA, G.C.; BARRETO, K.D.; CAMARGO, F.R.A.; SEBBENN, A.M. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.64, p.108-119, 2003.

KAMM U, ROTACH P, GUGERLI F, SIRAKY M, EDWARDS P, HOLDEREGGER R (2009) Frequent long-distance gene flow in a rare temperate forest tree (*Sorbus domestica*) at the landscape scale. *Heredity*, London, v.103, n.6, p.476-82, 2009.

KRAMER, A.T.; ISON, J.L.; ASHLEY, M.V.; HOWE, H.F. The paradox of forest fragmentation genetics. *Conservation Biology*, Cambridge, v.22 p.878–885, 2008.

KWAK, M.M., VELTEROP, O., VANANDEL, J. Pollen and gene flow in fragmented habitats. *Applied vegetation science*, Lania, v.1, n.1, p.37–54, 1998.

LACERDA, E.B.L., SEBBENN, A.M., KANASHIRO, M. Long-pollen movement and deviation of random mating in a low-density continuous population of *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. *Biotropica*, Washington, v.40, p.462–470, 2008.

LEE, S.L.; NG, K.K.; SAW, L.G.; NORWATI, A.; SALWANA, M.H.; LEE, C.T.; NORWATI, M. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia. *American Journal of Botany*, Baltimore, v.89, p.447-459, 2002.

LEIMU, R.; MUTIKAINEN, P.; KORICHEVA, J.; FISCHER, M. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology*, Oxford, v.94, p.942-952, 2006.

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras*. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5.ed. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, v.1, 2008. 384p.

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

LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resource loss following habitat fragmentation and degradation; reconciling predicted theory with empirical evidence. *Heredity*, London, v.95, p.255–273, 2005.

MANOEL, R.O.; CARDIN, L.T.; MOREIRA, J.P.; SILVA, E.C.B.; SENNA, S.N.; KUBOTA, T.Y.K.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Sistema de reprodução, parentesco e tamanho efetivo em sementes de polinização livre de populações fragmentadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por análise de locos microssatélites. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v.40, n.94, p.145-155, 2012.

MANOEL, R.O.; FREITAS, M.L.M.; FURLANI JÚNIRO, E.; ALVES, P.F.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Individual, fruit, and annual variation in correlated mating in a *Genipa americana* population. *Silvae Genetica*, v.64, n.3, p.108-116, 2015.

- MORAES, M.A.; GAINO, A.P.S.; MORAES, M.L.T.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M. Estimating coancestry within open-pollinated progenies of a dioecious species: the case study of *Myracrodruon urundeuva*. *Silvae Genetica*, v.61, n.6, p.256-264, 2012.
- 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.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity*, London, v.67, p.167-174, 1991.
- NASON, J.D., HAMRICK, J.L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. *The Journal of Heredity*, Cary, v.88, p.264-276, 1997.
- NEI, M. *Molecular Population Genetics and Evolution*. Amsterdam: North-Holland Publishing Company. 1975, 288p.
- NUNES, Y.R.F., FAGUNDES, M., ALMEIDA, H.S., VELOSO, M.D.M. Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão - Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. *Revista Árvore*, Viçosa, v.32, p.233-243, 2008.
- NOGUEIRA, J.C.B. *Reflorestamento misto com essências nativas: a mata ciliar*. Instituto Florestal, São Paulo, 2010, 148p.
- OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCovsky, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v.29, n.2, p.294-307, 2006.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. *Heredity*, London, v.47, n.1, p.35-52, 1981.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution*, Lancaster, v.43, p.848-859, 1989.
- RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using independent loci. *Heredity*, London, v.72, p.86-94, 2002.
- 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. 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.

SEDDON, A.W.R.; MACIAS-FAURIA, M.; LONG, P.R.; BENZ, D.; WILLIS, K.J.W.. Sensitivity of global terrestrial ecosystems to climate variability. *Nature*, London, v.531, n.7593, p.229-232, 2016.

SEOANE, C.E.S.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Efeitos da fragmentação florestal em populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.57, p.123-139, 2000.

SILVA, C.R.S.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; ERVEDOSA, F.R.; MOTA, J.W.S.; FIGUEIRA, A.; SEBBENN, A.M. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. *Heredity*, London, v.106, p.973–985, 2011.

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, p.1548–1558, 2008.

SORK, V.L.; SMOUSE, P.E. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, New York, v.21, n.6, p.821-836, 2006.

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.

SOUZA, D.C.L.; ROSSINI, B.C.; SOUSA, F.B.; SEBBENN, A.M.; MARINO, C.L.; MORAES, M.L.T. Development of microsatellite markers for *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão), a highly endangered species from tropical forest, based on next-generation sequencing (dados não publicados).

TAMAKI, I.; SETSUKO, S.; TOMARU, N. Estimation of outcrossing rates at hierarchical levels of fruits, individuals, populations and species in *Magnolia stellata*. *Heredity*, London, v.102, p.381-388, 2009.

VIEGAS, M.P.; SILVA, C.L.S.P.; MOREIRA, J.P.; CARDIN, L.T.; AZEVEO, 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, v.35, n.4, p.769-79, 2011.

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.

ZHAO, H.; ZHOU, L.; LIU, H.; BAO, Z. Genetic effects of different mating modes in *Sinocalycanthus chinensis* (Cheng et S.Y. Chang) Cheng et S.Y. Chang, an endangered species endemic to Zhejiang Province, China. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.54, Oxford, p.8–14, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa pesquisa foi proposta com o intuito de se obter informações para a conservação *ex situ* e para programas de melhoramento genético de *Myracrodruon urundeuva*, uma vez que, em virtude dos aspectos apresentados, fica clara sua necessidade de conservação, nos diferentes biomas brasileiros, tanto em sua forma natural quanto em plantios de conservação. O comprometimento da dinâmica dos processos ecológicos, em ambiente natural, por conta das ações antrópicas, afeta de maneira direta a diversidade genética e, conseqüentemente, a evolução de espécies florestais. Conhecer a distribuição da diversidade genética dentro e entre populações remanescentes e como a fragmentação influencia os padrões de diversidade genética e o sistema de reprodução foram de suma importância para o futuro das populações estudadas. O estudo genético populacional e do sistema de reprodução, por meio de locos microssatélites de *M. urundeuva* desenvolvidos a partir de uma das populações de estudo, e a avaliação de caracteres quantitativos de crescimento evidenciaram existência de diversidade genética entre e dentro das populações, ressaltando-se, porém, risco de endogamia e perda de diversidade nas gerações futuras, inferidos pela baixa representatividade genética das populações e pelas taxas de cruzamento entre parentes e de cruzamentos correlacionados. Para avaliar a magnitude do efeito negativo causado pela fragmentação, com o decorrer dos anos, as respectivas populações naturais devem ser estudadas, para as mesmas análises, procurando-se amostrar mais progênies de cada população.

A utilização da genética quantitativa e molecular mostrou dificuldade para se estabelecer associação entre variabilidade quantitativa e de marcadores moleculares, devido aos diferentes números de repetições de cada experimento, números de progênies amostradas e idades dos plantios (os caracteres de crescimento são controlados por vários genes, com diferentes genes se expressando durante o desenvolvimento das plantas). Além disso, o genoma de uma espécie não é suficientemente coberto com marcas moleculares; assim, o potencial que os marcadores moleculares apresentam para inferir a quantidade de variação genética em caracteres quantitativos pode ser mais fraco ou ausente para caracteres poligênicos. Entretanto, mesmo podendo gerar padrões diferentes de divergência genética, as genéticas quantitativa e molecular podem se complementar em algum aspecto, sendo informativas para estudos dessa natureza.

REFERÊNCIAS

- ADÂMOLI, J. Fisiografia do Pantanal. *In*: A.C. ALLEM & J.F.M. VALLS. **Recursos forrageiros do Pantanal Matogrossense**, (Eds). Brasília: Embrapa-Cenargen-CPAP. 1987, p.15-18.
- AGUIAR, A.V. **Emprego de parâmetros moleculares e quantitativos na conservação e melhoramento de *Eugenia dysenterica* DC**. 2004. 186f. Tese (Doutorado) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.
- AGUIAR, A.V. et al. Relação entre a variação genética de caracteres quantitativos e marcadores moleculares em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.1, p. 157-169, 2011.
- ALMEIDA, S. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.
- ALVES, P.F. et al. Diversidade genética e sistema de reprodução em uma população base de Dehnh. procedente de Katherine River, Austrália. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.21, n.2, p.169-79, 2009.
- ASSIS, E.S. **Diversidade genética de gabirobeiras (*Campomanesia* spp) por meio de caracteres morfológicos e marcadores moleculares RAPD**. 2011. 61 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- BARROSO, P.A.V. et al. In situ conservation and genetic diversity of three populations of *Gossypium mustelinum* Miers (ex Watt). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 57, n.3, p.343- 9, 2010.
- BATISTA, C.M. et al. Estimativas de parâmetros genéticos e a variabilidade em procedências e progênes de *Handroanthus vellosi*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 71, p. 269-276, 2012.
- BREED, M.F. et al. Pollen diversity matters: revealing the neglected effect of pollen diversity on fitness in fragmented landscapes. **Molecular Ecology**, Oxford, v.21, p. 5955–5968, (2012).
- BRONDANI, R.P.V. et al. Genetic structure of wild rice *Oryza glumaepatula* populations in three Brazilian biomes using microsatellite markers. **Genetica**, The Hague, v.125, n.2-3, p.115-23, 2005.
- CAETANO, S. et al. Identification of microsatellite markers in a neotropical seasonally dry Forest tree, *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology Notes**, Loughborough, v.5, n.1, p.21-23, 2005.
- CAETANO, S. et al. 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.

- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Colombo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisas Florestais, 1994. 640p.
- CHINELATO, F.C.S. et al. Variabilidade genética em progênies de guapuruvu *Schizolobium parahyba*. **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v.5, n.2, p. 71-76, 2014.
- COUTINHO, L.M. O conceito de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.1 n.1, p.17-23, 1978.
- DEGEN, B.; SEBBENN, A.M. **Genetic and tropical forest**. In: PANCEL, L. & M. KÖLH, editors. Tropical Forestry Handbook, 2ed. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; p.1–30. 2014.
- FALEIRO, F.G. **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- FELICIANO, A.L.P.; MARANGON, L.C.; HOLANDA, A.C. Morfologia de sementes, de plântulas e de plantas jovens de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.1, 2008.
- FERNANDES, K.H.P. et al. Variabilidade genética em progênies de polinização aberta de *Jatropha curcas*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.43, n.105, p.167-73, 2015.
- FERRETTI, A.R. et al. Classificação das espécies arbóreas em grupos ecofisiológicos para revegetação com nativas no estado de São Paulo. **Florestar Estatístico**, São Paulo, v.3, n.7, p.73-77, 1995.
- FLÖRSHEIM, S.M.; TOMAZEILO FILHO, M. Dendrologia e anatomia da madeira de aroeira - *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão (Anacardiaceae). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.6, p.75-85, 1994.
- FREITAS, M.L.M. et al. Variação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão em três sistemas de cultivo. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.3, p. 319-329, 2006a.
- FREITAS, M.L.M. et al. Parâmetros genéticos em progênies de polinização aberta de *Cordia trichotoma* (Vell.) ex Steud. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.18, p.95-102, 2006b.
- FREITAS, M.L.M. et al. Variação e parâmetros genéticos em dois bancos de germoplasma de *Tabebuia heptaphylla* (Velloso) Toledo. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.20, n.1, p.13-22, 2008.
- GONELA, A. et al. Genetic diversity and mating system of *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae/Caesalpinioideae). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.12, n.1, p.569-80, 2013.

GUERRA, C.R.S.B. et al. Estratégias de seleção dentro de progênes em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.37, n.81, p.079-087, 2009.

HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from cerrados and forests of central Brazil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.20, n.3, p.247-256, 2008.

HUECK, K. **As Florestas da América do Sul**: Ecologia, composição e importância econômica; tradução de Hans Reichardt. São Paulo, Polígono, 1972, 466p.

KAGEYAMA, P.Y. Revegetação de áreas degradadas: modelos de consorciação com alta diversidade. In: I Simposio Sulamericano e I Simpósio de Recuperação de Áreas Degradadas, Foz do Iguaçu, 1994. **Anais...** Foz do Iguaçu: FUPEF, 1994, p. 569-576.

KAGEYAMA, P.Y.; DIAS, I.S. Aplicación de conceptos genéticos a espécies Forestales nativas en Brasil. **Información sobre Recursos Genéticos Forestales**, Roma, v.13, p.2-10, 1985.

KIKUCHI, S.; SHIBATA, M.; TANAKA, H. Effects of forest fragmentation on the mating system of a cool-temperate heterodichogamous tree *Acer mono*. **Global Ecology and Conservation**, Menglun, v.3, p.789-801, 2015.

KUBOTA, T.Y.K. et al. Variabilidade genética para caracteres silviculturais em progênes de polinização aberta de *Balfourodendron riedelianum* (Engler). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.43, n.106, p.407-15, 2015.

LIRA, C.F. et al. Long-term population isolation in the endangered tropical tree species *Caesalpinia echinata* Lam. revealed by chloroplast microsatellites. **Molecular Ecology**, Oxford, v.12, n.12, p.3219-3225, 2003.

LLERAS, E. **Conservação de recursos genéticos florestais**. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, pt.4, p.1179-1184, 1992.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5.ed. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, v.1, 2008. 384p.

LUCENA, R.F.P. et al. Local uses of native plants in an area of caatinga vegetation (Pernambuco, NE Brazil). **Ethnobotany Research and Applications**, Texas, v. 6, p. 3-13, 2008.

MANOEL, R.O. et al. Sistema de reprodução, parentesco e tamanho efetivo em sementes de polinização livre de populações fragmentadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por análise de locos microssatélites. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.40, n.94, p.145-55, 2012.

MANOEL, R.O. et al. Individual, fruit, and annual variation in correlated mating in a *Genipa americana* population. **Silvae Genetica**, v.64, n.3, p.108-116, 2015.

MARTINS, K. et al. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.31, n.1, p.61-69, 2008.

MEDEIROS, A. C. S. **Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.)**. 1996. 127f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1996.

MINISTÉRIO DE MEIO AMBIENTE (MMA). **Mapas de cobertura vegetal**, 2015a. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/mapas_cobertura_vegetal.pdf>, Acesso em 05 de fevereiro de 2015.

MINISTÉRIO DE MEIO AMBIENTE (MMA). **Biomass**, 2015b. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomass>>, Acesso em 05 de fevereiro de 2015.

MONTEIRO, J.M. et al. Does total tannin content explain the use value of spontaneous medicinal plants from the Brazilian semi-arid region? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.24, n.2, p.116-123, 2014.

MORAES, M.A. et al. Produtividade, estabilidade e adaptabilidade em progênies de *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão - Anacardiaceae. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.40, n.93, p.69-76, 2012.

MORAES, M.A. et al. Variação genética em progênies de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. utilizando o delineamento sistemático tipo "leque". **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.41, n.98, p.175-183, 2013.

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

MORI, E.S. et al. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.41, n.99, p.307-317, 2013.

MOURA, N.F. et al. Genetic structure of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) populations in the Cerrado region of Central Brazil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.3, p.473-81, 2011.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, n.403, p.853-858, 2000.

NOGUEIRA, J.C.B. **Reflorestamento misto com essências nativas**: a mata ciliar. Instituto Florestal, São Paulo, 2010, 148p.

NUNES, Y.R.F. et al. Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão- Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, n.2, p. 233-243, 2008.

OLIVEIRA, E.J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirao Preto, v.29, n.2, p.294-307, 2006.

OLIVEIRA, S.A. et al. Variação genética em progênies de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) sob diferentes condições de cultivo: aspectos silviculturais. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.12, n. 2, p.155-166, 2000.

RAMOS, M.A. et al. Use and knowledge of fuelwood in an area of Caatinga vegetation in NE Brasil. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.32, p.510-517, 2008.

REIS, C.A.F. et al. Diversidade e estrutura genética espacial de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) em uma floresta paludosa. **Revista Árvore**, Viçosa, v.33, n.2, p.265-75, 2009.

RESENDE, M.; LANI, J.L.; REZENDE, S.B. Pedossistemas da Mata Atlântica: considerações pertinentes sobre a sustentabilidade. **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.3, p.261-269, 2002.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. **As matas de galeria no contexto do bioma Cerrado**. In: RIBEIRO, J.F.; FONSECA, C.E.L.; SOUSA-SILVA, J.C. (eds). Cerrado: Caracterização e Recuperação de Matas de Galeria, EMBRAPA, Planaltina, p.29-47, 2001.

ROQUE, A.A; ROCHA, R.M; LOIOLA, M.I.B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinas**, Botucatu, v.12, n.1, p.31-42, 2010.

SAMPAIO, P.T.B.; RESENDE, M.S.V.; ARAUJO, A.J. Estimates of genetic parameters and selection methods for genetic improvement of *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.11, p.2243-2253, 2000.

SANTANA, I.B.B. **Divergência genética entre acesso de umbu-cajazeira mediante análise multivariada utilizando marcadores morfoagronômicos e moleculares**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

SANT'ANA, V.Z. et al. Parâmetros genéticos em progênies de polinização aberta de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong em Luiz Antonio, SP, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v.40, n.3, p.515-520, 2013.

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.

SANTOS, L.F. **Avaliação da diversidade genética em *Eucalyptus* ssp. por meio de marcadores moleculares e métodos quantitativos**. 2012. 69f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2012.

- SEBBENN, A. M. et al. Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva – *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 31-38, 1998.
- SEBBENN, A.M. et al. A. Comportamento da variação genética entre e dentro de procedências e progênes de *Gallesia integrifolia* Vell. Moq. para caracteres quantitativos. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.21, n.2, p.151-63, 2009.
- SENNA, S.N. et al. Variação e parâmetros genéticos em teste de progênes de polinização livre de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert em Luiz Antonio –SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 95, p.345-352, 2012.
- SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais nativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.54, p.07-35, 2007.
- SILVA, L.C.R. et al. Expansion of gallery forests into central Brazilian savannas. **Global Change Biology**, Oxford, v.14, n.9, p.2108-2118, 2008.
- SILVA, M.I.G. et al. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.22, n.1, p.193-207, 2012.
- SIQUEIRA, A.C.M.F. et al. Comportamento silvicultural e genético de duas espécies arbóreas tropicais secundárias. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.11, n.1, p.53-64, 1999.
- TUNG, E.S.C. et al. Variação genética para caracteres silviculturais e anatômicos da madeira em progênes de *Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.38, n.87, p.499-508, 2010.
- VALOIS, A.C.; NASS, L.L.; GOES, M. Conservação “*ex situ*” de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, p.29-55.
- VIANA, G. et al. *Myracrodruon urundeuva* Allemão, a Brazilian medicinal species, presents neuroprotective effects on a Parkinson’s disease model, in rats. **European Neuropsychopharmacology**, Amsterdam, v.24, n.2, p.230–231, 2014.
- VIEIRA, F.A.; CARVALHO, D. Genetic structure of an insect-pollinated and bird-dispersed tropical tree in vegetation fragments and corridors: implications for conservation. **Biodiversity and Conservation**, London, v.17, n.10, p.2305-21, 2008.
- VIEGAS, M.P. et al. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação *ex situ*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.4, p.769-79, 2011.

VILLAS BÔAS, G.K.; GADELHA, C.A.G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.6, p.1463-1471, 2007.

VRANCKX, G. et al. Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. **Conservation Biology**, Cambridge, v.26, p.228–237, 2012.

WARD, M. et al. To self, or not to self... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in Neotropical trees. **Heredity**, Edinburgh, v.95, p.246–254, 2005.

ZHAO, H. et al. Genetic effects of different mating modes in *Sinocalycanthus chinensis* (Cheng et S.Y. Chang) Cheng et S.Y. Chang, an endangered species endemic to Zhejiang Province, China. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.54, Oxford, p.8–14, 2014.