



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Efeitos do corte seletivo de árvores sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen em uma população de *Hymenaea courbaril* na Amazônia Brasileira.

FRANCIMARY DA SILVA CARNEIRO
Engenheira Florestal

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn.

Coorientador: Pesq. Dr. André Eduardo Biscaia de Lacerda.

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

Especialidade: Sistemas de Produção

Ilha Solteira-SP
Brasil
Julho-2010

FICHA CATALOGRÁFICA

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

C289e

Carneiro, Francimary da Silva.

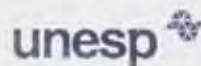
Efeitos do corte seletivo de árvores sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen em uma população de *Hymenaea courbaril* na Amazônia brasileira / Francimary da Silva Carneiro. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2010
74 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2010

Orientador: Alexandre Magno Sebbenn

Coorientador: André Eduardo Biscaia de Lacerda

1. Análise de paternidade. 2. Árvores tropicais. 3. Exploração florestal.
4. Locos microssatélites. 5. Diversidade genética.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

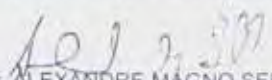
TÍTULO: Efeitos do corte seletivo de árvores sobre o sistema de reprodução e a dispersão de pólen em uma população de *Hymenaea courbaril* na Amazônia Brasileira

AUTORA: FRANCIMARY DA SILVA CARNEIRO

ORIENTADOR: Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ANDRE EDUARDO BISCAIA DE LACERDA

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


Prof. Dr. ALEXANDRE MAGNO SEBBENN
Instituto Florestal de São Paulo - Secret. do Meio Ambiente

Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS
Divisão de Dasonomia - Horto Florestal - Instituto Florestal de São Paulo - São Paulo/SP

Prof. Dr. MILTON KANASHIRO
Centro de Pesquisa Agroflorestal Da Amazônia Oriental/ Belém/Pa / Embrapa Amazônia Oriental

Data da realização: 30 de julho de 2010

**A minha vizinha linda e amada
Francelina Costa da Silva e a meus pais
amados Maria do Socorro da Silva
Carneiro e Francisco Franciscano Carneiro
(*In memoriam*). Dedico.**

Ao projeto Dendrogene- Conservação Genética em
Florestas Manejadas na Amazônia.
Ofereço.

A Deus agradeço.

“Te agradeço Senhor pelo teu amor e cuidado, pelas maravilhas que tens feito em minha vida, em minha família e amigos, a todos que entraram em minha história de vida e me ensinaram a confiar em ti, crescer e ser mais humana e humilde. Pelo término desta longa jornada com mais sincero agradecimento a ti, que me fizestes chegar até aqui, sei que não é o fim, mas o princípio de outra caminhada e sempre confiando em Ti Senhor.”

Francelina Costa da Silva.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida durante o Mestrado.

Aos projetos MCT-CNPq, que através da sub-rede Manflor (manejo e conservação de recursos florestais madeireiros e não madeireiros) possibilitou o desenvolvimento dessa pesquisa, com recursos obtidos junto ao PPG7.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) Floresta Nacional do Tapajós, pela permissão de uso dessa floresta como área de estudo.

Ao meu orientador Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela oportunidade e orientação.

Aos pesquisadores da Embrapa-Amazônia Oriental: Dr. Milton Kanashiro, Dr. João Olegário Pereira de Carvalho, M.Sc. José do Carmo Alves Lopes, Dra. Márcia Motta Maués, Dr. Raimundo Cosme de Oliveira Junior, ao Assistente de pesquisa Luiz Parente de Souza (*in memoriam*), a pesquisadora da Embrapa-Acre Dra. Lucia Helena de Oliveira Wadt e ao meu coorientador, irmão de Dendrogene e Pesquisador da Embrapa Floresta Dr. André Eduardo Biscaia de Lacerda, pela amizade, apoio, e desenvolvimento deste trabalho.

Aos parataxonomos da Flona do Tapajós Burú, Xaropinho, Seu Jaca, ao técnico do LBA Cleuton Pereira e Chico, pelo esforço e dedicação na fenologia, coleta de sementes e folhas de jatobá e pelo conhecimento adquirido com eles.

A minha família Dendrogene que sempre esteve ao meu lado me ajudando, nem que fosse com pensamentos positivos: Christina Cléo Vinson, Vania Renó, Ian Thompson, Marivana Silva, Cinthya Arruda, Dominic Cloutier, Licurgo Anchieta e Eric Bandou.

Aos docentes do curso de mestrado da UNESP-FEIS. Em especial ao professor Prof. Dr. Mário Luiz Teixeira de Moraes e ao professor Dr. Orivaldo Arf, pela atenção, dedicação e palavras de incentivo.

As minhas amigas que sempre estiveram ao meu lado Julia Barbalho, Simone Sampaio, Nilza Lemos, Gisele dos Santos e minha tia Regina, amo vocês.

Aos meus irmãos de república Fabiana Oikawa, Ana Paula dos Santos Santana, Luiz Paulo Montenegro e Célia de Jesus Freitas pelo amor, receptividade, amizade, apoio e companheirismo.

A Dra. Maristerra Lemes, pela disponibilização e orientação no Laboratório de Genética e Biologia Reprodutiva de Plantas- LABGEN no Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-Inpa e as Labjets: Milene Souza, Gabriela Farias, Carolina Medeiros, Érika Souza, Marina Cortes, Jaqueline Zocca e Carla Haisler Sardelli pela receptividade, união e amor.

Ao Dr. Paulo Bevilaqua de Albuquerque e ao Dr. Carlos Rogério de Sousa Silva da CEPLAC-ERJHO e ao Prof. Dr. Alexandre Siqueira Guedes Coelho da UFG, pela confiabilidade e ensinamentos prestados.

E a minha família que aqui está em ultimo lugar, mas no meu coração está em primeiro, meus irmãos Harley, Edney, Geferson e Gisele, meus tios, tias, primos e primas que sempre torceram e oraram por mim. Amo vocês.

Obrigada!

Efeitos do corte seletivo de árvores sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen de uma população de *Hymenaea courbaril* L. na Amazônia Brasileira.

Resumo

Este estudo investigou os efeitos do corte seletivo sobre a diversidade genética, sistema de reprodução e dispersão de pólen em uma população de *Hymenaea courbaril* L., situado na Floresta Nacional do Tapajós, Estado do Pará, utilizando nove locos microssatélites. A espécie é uma das mais importantes na Amazônia Brasileira devido o alto valor comercial de sua madeira. Antes do corte seletivo, todas as árvores adultas foram mapeadas, amostradas e genotipadas e 367 sementes foram coletadas de 20 árvores matrizes. Após o corte seletivo de 61% das arvores com DAP>81 cm, foram amostradas e genotipadas 250 sementes de 14 árvores reprodutivas. A análise da herança, ligação e desequilíbrio de ligação mostraram que os nove locos utilizados segregam conforme as leis mendelianas, não estão ligados e estão em equilíbrio gamético. As plantas não reprodutivas tinham maior número de alelos (122 alelos) do que as plantas reprodutivas (103) e as progênies (84). Destes alelos, 29 alelos eram exclusivos as plantas não reprodutivas, nove as plantas reprodutivas e 14 as progênies. O número médio de alelos por locos e a heterozigosidade esperada foram significativamente menores nas progênies antes ($k = 16,7$; $H_o = 0,710$) e após a exploração madeireira ($k = 9,33$; $H_o = 0,555$). O índice de fixação foi positivo e significativamente diferente de zero em todas as amostras ($\hat{F}_{ad} = 0,111$, $\hat{F}_{juv} = 0,160$ e $\hat{F}_{prog} = 0,045$), sugerindo endogamia. A estimativa da taxa de cruzamento multilocos populacional (t_m) foi significativamente menor do que a unidade ($t_m = 0,962$) e a diferença entre a taxa de cruzamento multilocos e unilocos ($t_m - t_s = 0,066$) sugere que ocorreram cruzamentos entre parentes. A estimativa do número efetivo de árvores doadoras de pólen antes da exploração ($N_{ep} = 3,79$) foi significativamente menor que após a exploração de ($N_{ep} = 7,2$). A taxa de imigração de pólen (38%) foi menor do que a detectada antes da exploração (44,7%), embora a distância de dispersão de pólen foi maior (952 m) que a detectada antes da exploração (827 m). Em termos gerais, os resultados sugerem que a exploração promoveu o aumento no número de árvores polinizando, maior distância de dispersão de pólen, mas reduziu substancialmente a diversidade genética dentro das progênies e causou autofecundações. **Palavras-chave:** Análise de paternidade. Árvores tropicais. Exploração florestal. Locos microssatélites. Diversidade genética.

Effects of logging on the reproduction system and pollen dispersal of a *Hymenaea courbaril* L. population in the Brazilian Amazon.

Abstract

This study evaluated the effects of selective logging on the genetic diversity, reproductive system and pollen dispersal of a *Hymenaea courbaril* L. population by using nine microsatellite loci. Because of the characteristics of the wood, this species is one of the most logged in the Amazon resulting in significant reductions in its natural population. The study is located in the Tapajós National Forest, Para State, Brazil, in a 546 ha stand that is part of a governmental initiative for public forest concessions. To determine the effects of logging, both pre- and post-logging populations were analysed. Before logging, all adult trees of *H. courbaril* were mapped, sampled and genotyped; additionally progeny was analysed based on 367 seeds collected from 20 matrices. After logging took place (61% of the population above 81cm diameter at breast height), 250 seeds from 14 trees were collected and genotyped. Initially, tests for Mendelian inheritance, linkage and gametic disequilibrium were carried out which confirmed no linkage, deviation or disequilibrium for the used loci. The results for genetic diversity showed that the non-reproductive population presented a higher number of alleles (122) than the reproductive population (103) and progenies (84). From all alleles, 29 were exclusive to non-reproductive trees, nine to reproductive and 14 to progeny. The average number of alleles and expected heterozygosity were significantly lower for progenies in both pre- and post-logging situations ($k = 16,7$; $H_o = 0,710$; $k = 9,33$; $H_o = 0,555$, respectively). The fixation index was positive and significantly different from zero for all sampled populations which suggests endogamy ($\hat{F}_{ad} = 0,111$, $\hat{F}_{juv} = 0,160$ e $\hat{F}_{prog} = 0,045$). The multilocus crossing rate was statistically significant ($t_m = 0,962$) and the difference between multilocus and single-locus outcrossing rate was also significant ($t_m - t_s = 0,066$), thus indicating mating among related trees. The average number of effective pollen donors before logging ($N_{ep} = 3,79$) was significantly lower than after logging ($N_{ep} = 7,2$). Pollen originating from outside the area was lower than detected before logging (38% and 44,7% respectively), although the distance of pollen dispersion was longer after logging than before (952 and 827 m, respectively). In general, the results suggest that logging produces an increase in the number of pollen donors and further pollen dispersion. Logging may also result in a significant reduction in the genetic diversity within the progeny and an increase in self-fertilization.

Key-words: Paternity analysis. tropical trees. Logging. microsatellite locus. genetic diversity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Vista aérea: A) de uma exploração convencional; B) de uma exploração de impacto reduzido, em ambas as áreas foi extraído o mesmo volume de madeira, 25m³/ha (Fotos: Fundação Floresta Tropical – FFT). 17
- Figura 2.** A) Foto do mapa do Brasil com a Floresta nacional do Tapajós em amarelo; B) Flona do tapajós com a localização da área de estudo marcada com um quadrado branco; C) Área do ITTO, com a parcela de estudos do Dendrogene em verde escuro. (Adaptado do Ministério do Meio Ambiente, 2010). 21
- Figura 3.** Área de estudos intensivos do projeto Dendrogene, mapa de fenologia de *Hymenaea courbaril* L. 22
- Figura 4.** Fotos de *Hymenaea courbaril* L.; A) Fuste ; B) Sementes; C) Frutos; D) Madeira; E) Folhas e flores (Foto adaptada: LORENZI, 2000). 24
- Figura 5.** Morcego: A) Com pólen no pêlo; B) Se alimentando do néctar na flor (Adaptado: Cosmos,2007; Flowers,plants n blooms,2009). 26
- Figura 6.** Dispersores de *Hymenaea courbaril* L. A) Cutia; B) Cutiara; C) Anta; D) Porco do mato; E) Veado; F) Rato de espinho . 28
- Figura 7.** Distribuição espacial de árvores de *Hymenaea courbaril* (DAP $\geq$ 10 cm) antes (a) e após o corte seletivo de árvores (b) em uma parcela experimental de 546 ha na Floresta Nacional do Tapajós (Fonte adaptada: LACERDA, 2007). 29
- Figura 8.** Distribuição espacial de genótipos adultos e juvenis em população natural de *Hymenaea courbaril*. A linha contínua representa o valor médio do coeficiente de coancestria e as duas pontilhadas representam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade. 50
- Figura 9.** Frequência de distância na dispersão efetiva de pólen e frequência de distância entre as árvores masculinas e as árvores matrizes de *Hymenaea courbaril* L. 60

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Nome do primer, sequência de oligonucleotídeos, número de repetições (n° Rep), temperatura de anelamento (TA), produto do PCR dos locos utilizados para análise do genótipo *H. courbaril*. e () Sistema multiplex utilizado para *Hymenaea courbaril* L. 32
- Tabela 2.** Testes para hipótese de segregação regular (G) de nove marcadores microsatélites em *Hymenaea courbaril*. (n é o tamanho da amostra; G_1 é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ij}=n_{ii}+n_{jj}$; G_2 é a estatística G de máxima verossimilhança para o teste da hipótese de $n_{ik}=n_{jk}$; $n_{T1}=n_{ij}+n_{ii}+n_{jj}$; $n_{T2}=n_{ik}+n_{jk}$ 41
- Tabela 3.** Desequilíbrio de ligação entre os locos em diferentes fases ontogênicas de *Hymenaea courbaril*. Os valores na tabela são as probabilidades após 1000 permutações. O valor limite de significância após correção de Bonferroni é 0,000347. 43
- Tabela 4.** Teste de G de máxima verossimilhança para a hipótese de segregação independente (1:1:1:1) entre pares de locos em *Hymenaea courbaril* L. Probabilidade para a correção de Bonferroni para $\alpha= 0,05$, 0,00029 ($\chi^2_{criptico}=12,11$). 45
- Tabela 5.** Índices de diversidade genética e índice de fixação para árvores adultas, não reprodutivas e progênies de *Hymenaea courbaril* L. k é o número total de alelos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação. 46
- Tabela 6.** Índices de diversidade genética e índice de fixação para árvores adultas, não reprodutivas e progênies antes e após a exploração de *Hymenaea courbaril*. k é o número total de alelos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; $\hat{F}_{ad}$, $\hat{F}_{juv}$ e $\hat{F}_{prog}$ são os índices de fixação para os adultos, não reprodutivas e progênies, respectivamente; $P_{2^\circ Parente}$ é a probabilidade de excluir o segundo parente (quando um dos parentes é conhecido). (Fonte: LACERDA et al., 2008b) 49
- Tabela 7.** Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em uma população de *Hymenaea coubaril* L. t_m é a taxa de cruzamento multilocos; t_s é a taxa de cruzamento unilocos; t_m-t_s é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocos de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de pais polizadores; Θ é a coancestria dentro de progênies; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da progênie; média $\pm$ erro padrão da média 95% de probabilidade. 53

Tabela 8. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em uma população de *Hymenaea courbaril* L., após o corte seletivo de árvores.

54

Tabela 9. Estimativa do fluxo de pólen dentro de uma população de *Hymenaea courbaril*. s é a taxa de autofecundação; N_{ep} é o número efetivo de árvores polinizadoras; r_p é correlação de paternidade; F_m é o coeficiente de endogamia das árvores maternas; Θ é a coancestria dentro de progênie; N_e é o tamanho efetivo da progênie; δ é a distância de dispersão de pólen (média $\pm$ DP, sendo DP o desvio padrão da média); A_{ep} é a área de vizinhança de polinização.

59

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
1.1.	OBJETIVOS	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1.	Exploração de impacto reduzido na Amazônia– EIR	16
2.2.	Efeitos do corte seletivo sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen em espécies arbóreas	18
2.3.	Métodos de estudos do sistema de reprodução e dispersão de pólen em espécies arbóreas	19
2.4.	A floresta nacional do Tapajós	20
2.5.	O ISP Dendrogene	22
2.6.	A espécie <i>Hymenaea courbaril</i> L.	23
2.7.	A polinização de <i>Hymenaea courbaril</i> L.	25
2.8.	A dispersão de <i>Hymenaea courbaril</i> L.	27
3.	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1.	Características do local de estudo	29
3.2.	Amostragem	30
3.3.	Extração, quantificação e diluição do DNA	30
3.4.	Análise de locos microssatélites	31
3.5.	Genotipagem	31
3.6.	Análise de segregação dos locos	32
3.7.	Análise de desequilíbrio de ligação	33
3.8.	Teste de ligação entre os locos	34
3.9.	Análise da diversidade genética e do índice de fixação	34
3.10.	Análise da distribuição espacial dos genótipos	35
3.11.	Sistema de cruzamento	35
3.12.	Diferenciação no conjunto de pólen cruzado	37
3.13.	Análise de paternidade	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
4.1.	Herança e segregação	40
4.2.	Teste de desequilíbrio de ligação entre os pares de locos	42
4.3.	Teste de ligação entre os pares de locos	44
4.4.	Diversidade genética na amostra total	46
4.5.	Diversidade genética e índice de fixação entre gerações	47
4.6.	Estrutura genética espacial	50
4.7.	Sistema de cruzamento	51

4.8.	Distancia e padrões de dispersão de pólen	56
4.9.	Área de vizinhança efetiva de polinização	58
4.10.	Coancestria e tamanho efetivo da população reprodutiva	60
5.	CONCLUSÕES	61
6.	REFERÊNCIAS	62

1. Introdução

Ainda hoje a floresta amazônica brasileira vem sendo devastada pela exploração florestal desordenada, que, embora recentemente observe-se uma tendência de redução das taxas de desmatamento, estas continuam sendo significativas. Segundo os dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE a taxa de desmatamento na Amazônia Legal brasileira para o período de 1988 até 2009 teve uma variação de 29000 Km² em 1995 a 7000 km² em 2009.

Já em 1965 o código florestal brasileiro determinava no Artigo 15 (BRASIL,1965) que ficaria proibida a exploração sob forma empírica das florestas primitivas da bacia amazônica, que só poderiam ser utilizadas em observância a planos técnicos de condução e manejo florestal. Contudo, a regulamentação ocorreu somente em 1991. Desde então, o desenvolvimento da legislação ambiental culminou com a exigência, quando de empreendimentos florestais, de um Plano de Manejo Florestal. Tal legislação, citando como premissa básica a idéia de sustentabilidade social, econômica e ambiental, baseia-se nos critérios técnicos desenvolvidos para o sistema de manejo florestal conhecido como Exploração de Impacto Reduzido (EIR). Embora a normatização do manejo florestal na Amazônia tenha contribuído para o uso mais racional dos recursos florestais, os impactos ecológicos e genéticos ainda são em grande parte desconhecidos. Historicamente, a floresta amazônica brasileira permaneceu completamente intacta até o início da era “moderna” do desmatamento, com a inauguração da rodovia Transamazônica, em 1970 (FEARNSSIDE, 2005) o que facilitou o acesso de pessoas que vieram atrás do “ouro verde”. Desde este período de ocupação, o avanço da fronteira agrícola, a exploração de madeira, a abertura de estradas e os incêndios florestais representam os principais fatores de fragmentação da floresta amazônica (NEPSTAD et al., 1999, 2002; ASNER 2005, 2006).

Durante a década de 1970 foi registrado no Brasil o primeiro inventário florestal a 100% de intensidade em floresta natural. Foi realizado na Estação Experimental de Curuá-U-na, município de Prainha no estado do Pará, executado pelo Projeto Desenvolvimento e Pesquisa Florestal –PRODEPEF, que era um convênio entre IBDF (Ibama), FAO e PNUD (OEDEKOVEN, 1971). Nessa área, em 1976, foi feita a primeira exploração florestal mecanizada na Amazônia, com base na lei florestal da época, que preconizava o corte de todas as árvores com DAP (diâmetro a 1,30m do solo) igual ou espécies florestais de valores comerciais acima de 45 cm. A segunda exploração florestal planejada na Amazônia, também

com base em inventário 100% e técnicas de derruba e arraste, foi realizada pelo PNPf (Embrapa/IBDF) na Floresta Nacional do Tapajós, à altura do Km 67 da BR 163, Rodovia Santarém-Cuiabá, no ano de 1979. Ainda na Flona do Tapajós, em 1982, foi realizada pela Embrapa mais uma exploração florestal mecanizada, incorporando novas técnicas de manejo florestal. Em seguida, em 1984, com as lições aprendidas nas três explorações experimentais anteriores, a Embrapa realizou a primeira exploração experimental, coordenada por pesquisadores da Embrapa, porém executada pela Companhia Florestal Monte Dourado no município de Vitória do Jari, no estado do Amapá (CARVALHO, 1992). *“Em 1998, com base nos resultados do monitoramento de inventário florestal contínuo e pesquisas ecológicas e silviculturais realizadas nas áreas experimentais da Flona do Tapajós e de Vitória do Jari, foi realizada a última exploração experimental coordenada pela Embrapa, desta vez no município de Moju, estado do Pará. A exploração foi coordenada por pesquisadores da Embrapa e executada pela empresa PERACHI, que hoje se chama Juruá florestal. Essa empresa, juntamente com a Cikel Brasil Verde Madeiras, se tornaram parceiras da Embrapa na divulgação das boas técnicas de manejo florestal, implementando o Projeto Bom Manejo (Embrapa/ CIFOR/ ITTO), que muito contribuiu para a atual Legislação Florestal Brasileira e facilitou a certificação de áreas de manejo florestal para várias empresas na Amazônia, iniciando com as próprias empresas parceiras, no início do ano de 2001, a atual legislação florestal é fruto das pesquisas que foram geradas por pesquisadores da Embrapa-Amazônia Oriental, [INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia](#) e UFRA- Universidade Federal Rural da Amazônia”*¹.

Em 2006 o Serviço Florestal Brasileiro (SBF) foi instituído pela Lei nº 11.284/06 e aprovado na estrutura regimental do Ministério do Meio Ambiente pelo Decreto nº 6.101/07. Visando ser um parceiro fundamental no desenvolvimento de uma economia florestal sustentável, com inclusão social e com a missão de conciliar o uso e conservação das florestas, valorizando-as em benefício das gerações presentes e futuras, por meio da gestão de florestas públicas, da construção de conhecimento, do desenvolvimento de capacidades e da oferta de serviços especializados (BRASIL, 2009).

Embora o desenvolvimento técnico da exploração madeireira tenha evoluído, as preocupações quanto aos impactos ecológicos e genéticos eram em grande parte desconhecidos. Neste contexto, iniciou-se em 2000 o projeto Dendrogene - Conservação

¹ Comunicação pessoal do Professor da Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA e Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental Dr. João Olegário Pereira de Carvalho. Em 14 de Junho de 2010.

Genética em Florestas Manejadas na Amazônia que fez parte da cooperação bilateral entre os governos brasileiro e britânico (ABC e DFID), sob a coordenação da Embrapa Amazônia Oriental. O objetivo principal foi o desenvolvimento do conhecimento científico de composição de espécies, capacidade reprodutiva e diversidade genética de populações arbóreas visando a redução dos impactos do manejo florestal na Amazônia. Deste projeto surgiram vários trabalhos que contribuíram para o conhecimento de fluxo gênico, diversidade genética e estrutura genética, e estratégias reprodutivas de sete espécies florestais em área sob manejo, a saber: *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), *Carapa guianensis* Aubl (andiroba), *Jacaranda copaia* (Aubl.) D.Don (parapará), *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba), *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. (cumaru), *Symphonia globulifera* L.f(anani)e *Bagassa guianensis* Aubl. (tatajuba), antes e após a exploração florestal de impacto reduzido (VINSON et al., 2005a, 2005b; AZEVEDO et al., 2007; CARNEIRO et al., 2007; 2009; CLOUTIER et al., 2007; SILVA et al., 2008; LACERDA et al., 2008a; 2008b; MAUÉS, 2008; 2010).

Embora o corte seletivo de árvores seja uma prática comum na floresta Amazônica para a produção de madeira, seus impactos sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen são pouco conhecidos (LACERDA et al., 2008a). O corte seletivo de árvores influencia nos processos naturais como fluxo de genes, sistema de reprodução, deriva genética e estrutura genética espacial, ambos direta e indiretamente (KANASHIRO et al., 2002), reduz a densidade de árvores reprodutivas e aumentando a distância entre coespecíficos reprodutivos (LACERDA et al., 2008a). Isto pode criar subpopulações internas a população em que a capacidade de troca de material genético diminui. Ainda, o corte seletivo de árvores causa impactos sobre estágios ontogênicos iniciais de uma população, pelo aumento substancial da mortalidade em plântulas, árvores jovens e adultas remanescentes devido aos danos causados pelas explorações de corte e transporte das árvores no interior das florestas (JENNINGS et al., 2001). As conseqüências disso podem ser negativas para a regeneração natural, sucesso reprodutivo e fluxo de genes via pólen e sementes, como também, para outros organismos (NASON; HAMRICK, 1997; DAYANANDAN et al., 1999). Embora a EIR tenha reduzido os impactos da exploração, comparado ao sistema sem planejamento de exploração (PUTZ et al., 2000), alguns estudos encontraram que em longo prazo este não é sustentado com respeito a aspectos genéticos, demográficos e produção de madeira (DEGEN et al., 2006; VAN GARDINGEN et al., 2006; AZEVEDO et al., 2007, LACERDA, 2008a; SEBBENN et al., 2008).

Então, conforme pode-se observar, seja qual for o regime de corte, ainda existem muitas lacunas referentes a sustentabilidade das populações de espécies remanescentes e que envolvem questões genéticas e ecológicas. Desta forma, visando contribuir com a sustentabilidade ecológica e genética para dar um maior embasamento científico para o manejo florestal, esse trabalho analisou os impactos do corte seletivo de árvores em regime de exploração de impacto reduzido (EIR) sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen de uma população de *Hymenaea courbaril* L. na Amazônia Brasileira, com base em dados de marcadores genéticos tipo microssatélite.

1.1 Objetivos

Considerando o potencial impacto das práticas de exploração florestais correntemente usadas na Amazônia Brasileira, pretende-se neste estudo investigar os efeitos do EIR sobre o sistema de reprodução e a distância de dispersão de pólen em uma população de *Hymenaea courbaril* L., usando marcadores microssatélites. Dentro deste contexto, pretende-se investigar as seguintes questões:

1. O sistema de exploração EIR altera a taxa de cruzamento e a taxa de cruzamentos correlacionados de *Hymenaea courbaril* L. após a exploração madeireira?
2. O sistema de exploração EIR reduz a taxa de cruzamentos entre parentes após a exploração?
3. O sistema de exploração EIR altera a taxa de imigração de pólen dentro da parcela experimental após a exploração?
4. O sistema de exploração EIR altera a distância de dispersão de pólen após a exploração?

2 Revisão Bibliográfica

2.1. Exploração de impacto reduzido na Amazônia– EIR

Diferentes estudos têm sido conduzidos para avaliar os efeitos de sistemas de exploração florestal para diferentes espécies arbóreas ao redor do mundo. Tais estudos têm discutido tanto os aspectos positivos quanto os negativos dos impactos do manejo florestal sobre as espécies e o ambiente. As árvores respondem à exploração florestal em função de uma ampla gama de fatores espécie-específicos e que podem influenciar a conectividade genética e os padrões reprodutivos das populações (NASON; HAMRICK, 1997; ALDRICH; HAMRICK, 1998).

O impacto da exploração sobre a população pode variar significativamente dependendo do critério usado na operação e planejamento da exploração. O critério mais comum usado no manejo florestal nos trópicos úmidos envolve a variável diâmetro mínimo de corte (JENNINGS et al., 2001). O manejo florestal na Amazônia adota um sistema policíclico, em que apenas uma parte do estoque de madeira comercial é retirada em ciclos pequenos (< 40 anos), por meio de corte seletivo, com base em atributos tais como espécie e diâmetro mínimo de corte (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE- CONAMA, 2009).

Os procedimentos técnicos para elaboração, apresentação, execução e avaliação técnica de Planos de Manejo Florestal Sustentável - PMFS nas florestas primitivas e suas formas de sucessão na Amazônia Legal, segundo a Instrução Normativa nº- 5, de 11 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006), o manejo florestal sustentável para a produção de madeira PMFS Pleno tem que ter um ciclo de corte inicial de 35 anos, e fica estabelecido o diâmetro mínimo de corte (DMC) de 50 cm para todas as espécies para as quais ainda não se estabeleceu um DMC específico. Tal instrução ainda cita que o DMC pode ser mudado se trabalhos técnicos comprovem que o DMC pode ser alterado para uma espécie.

O corte seletivo de árvores na Amazônia é visto por muitos engenheiros florestais como a ferramenta ideal para a manutenção de espécies de valor econômico nas florestas secundárias. Essa técnica já vem sendo empregada há algumas décadas, somente nos dias atuais podemos calcular as perdas e ganhos que essa técnica pode causar para a manutenção da biodiversidade e ao aquecimento global. ***No entanto, não é realista dizer que as técnicas de EIR vão imitar as perturbações naturais, mesmo quando controladas, continua a ser uma das maiores intervenções prejudiciais às florestas, se comparada às perturbações naturais (SIST; BROWN, 2004).***

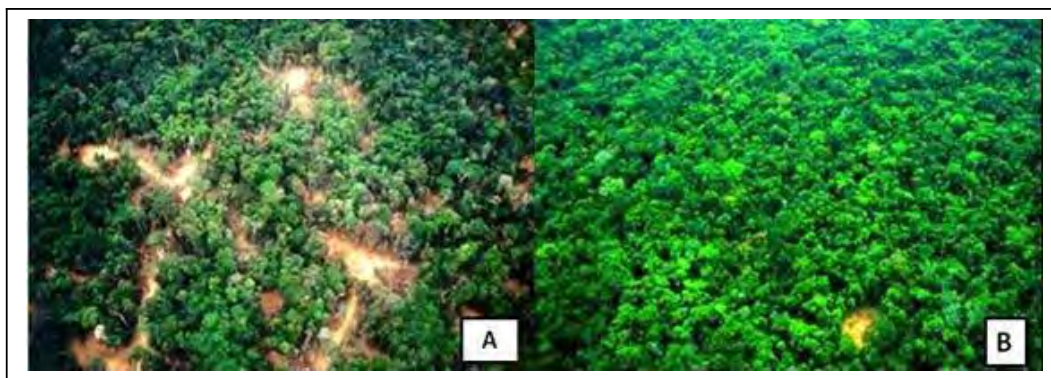


Figura 1. Vista aérea: A) de uma exploração convencional; B) de uma exploração de impacto reduzido, em ambas as áreas foi extraído o mesmo volume de madeira; 25m³/ha (Fotos: Fundação Floresta Tropical – FFT).

Embora o manejo florestal tenha atualmente critérios e procedimentos claros, as consequências vão além dos impactos imediatos sobre o ecossistema florestal. Aproximadamente 33% das terras que sofrem a colheita seletiva de árvores de interesse comercial acabam completamente devastadas em quatro anos, devido a imigração de pessoas que são facilitadas pelas construções de estradas que são abertas para a saída de madeira das áreas de exploração (ASNER et al., 2005; ASNER et al., 2006). *“Outro fator que contribui para a perda de mais árvores após um EIR é devido as raízes das árvores da Amazônia serem superficiais e quando se retira árvores dessa área de exploração, acabam ficando espaços entre as árvores que faz com que elas fiquem susceptíveis a quedas devido elas não terem onde apoiarem as suas copas e não terem raízes profundas o suficiente para segurar as mesmas”².*

A fiscalização não tem sido capaz de impedir a exploração predatória das florestas na Amazônia, mantendo níveis relativamente elevados de desmatamento. Ademais, tal deficiência também afeta as áreas sob manejo legalmente constituídas, o que possibilita a

² Comunicação pessoal do Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental M.Sc. José do Carmo Alves Lopes. Em 14 de Junho de 2010.

exploração além dos níveis permitidos assim como possibilita a exploração ilegal subsequente tanto das áreas de manejo como nas suas proximidades. Por outro lado, empresas madeireiras certificadas aplicam o manejo florestal seguindo critérios e práticas pré-determinadas objetivando a manutenção das funções ecológicas e principalmente buscam garantir a sustentabilidade econômica a longo prazo com o manejo das florestas. Um dos princípios do Conselho de Manejo Florestal (FSC) é a conservação da diversidade ecológica e seus valores associados, dos recursos hídricos, dos solos, dos ecossistemas e das paisagens frágeis e singulares, assim pretendem manter as funções ecológicas e a integridade das florestas, incluindo a diversidade genética, a diversidade das espécies e do ecossistema (CONSELHO BRASILEIRO DE MANEJO FLORESTAL- CBMF,2002).

Asner et al (2006) sugerem que 76% de toda exploração florestal feita na Amazônia resultou em altos níveis de danos, tornando as florestas suscetíveis à seca e ao fogo. Tal estudo cita ainda que EIR na Amazônia brasileira é dominada por operações altamente prejudiciais à floresta e que, seguindo a lei florestal em vigor, não haverá produção de madeira suficiente para uma segunda colheita, não sendo o manejo, portanto, sustentável.

2.2. Efeitos do corte seletivo sobre o sistema de reprodução e dispersão de pólen em espécies arbóreas

Uma intensa redução no tamanho reprodutivo de uma população tem potencial para reduzir os níveis de diversidade genética e conseqüentemente, afetar o potencial adaptativo futuro da espécie (RAJORA et al., 2000; GLAUBITZ et al., 2003; LOWE et al., 2005). Adicionalmente, a redução no número de árvores reprodutivas pode afetar o movimento dos polinizadores e assim a capacidade de dispersar pólen, causando um aumento na taxa de autofecundação e cruzamentos correlacionados. Em alguns casos, as árvores podem se tornar espacialmente e reprodutivamente isoladas, possibilitando a extinção local (NASON; HAMRICK, 1997). Por outro lado, a exploração madeireira também reduz a densidade vegetal, barreiras físicas ao pólen e incrementa a abertura do dossel da floresta. Estes efeitos podem favorecer a dispersão de pólen e reduzir a heterogeneidade do pólen de árvores espacialmente distantes (WHITE et al., 2002; DICK et al., 2003; ROBLEDO-ARNUNCIO et al., 2004; SORK et al., 2005). Neste caso, a perda de alelos na população reprodutiva, causada pela redução da população pela exploração pode ser compensada em parte pela migração de pólen de populações vizinhas.

Uma das críticas do sistema EIR está relacionada ao fato de que muitas espécies só podem iniciar o processo de reprodução após atingirem diâmetros maiores do que 50 cm, e mesmo assim a taxa de florescimento pode ser ainda pequena, em comparação a árvores de maiores dimensões, Ex. *Hymenaea courbaril* L. (LACERDA, 2007). No caso de EIR, a população reprodutiva é reduzida a um pequeno número de árvores reprodutivas. Outras críticas estão relacionadas com a densidade, distribuição diamétrica, produtividade da floresta, estabilidade do ecossistema e alterações na estrutura genética da população remanescente (HAWLEY et al., 2005). Em relação à estrutura genética, o corte seletivo pode causar mudanças nas frequências gênicas e a perda de alelos em relação à população remanescente ou mesmo romper o sistema de reprodução dentro das populações de densidade reduzida, como observado em situações pós-manejo (BUCHERT et al., 1997; RAJORA et al., 2000; HAWLEY et al., 2005; CLOUTIER et al., 2007).

Embora o sistema EIR estabeleça um mínimo diâmetro de corte, este não considera a idade em que as árvores tornam-se reprodutivas. Este fator pode ser de crucial importância para espécies que são reprodutivas apenas em diâmetros maiores do que o diâmetro mínimo de corte. No caso de *H. courbaril*, considerando que o florescimento inicia próximo dos 49 cm de diâmetro (LACERDA, 2008b) e que a espécie é intensamente explorada, é possível que apenas um pequeno número de árvores reprodutivas permaneçam após a exploração. Além do menor número de árvores reprodutivas, a distância entre elas também aumenta. O impacto de tal redução na densidade reprodutiva da população e a distância entre seus indivíduos pode levar a um aumento na taxa de autofecundação, cruzamentos correlacionados e redução na distância de dispersão de pólen.

2.3. Métodos de estudos do sistema de reprodução e dispersão de pólen em espécies arbóreas

Alguns impactos do manejo florestal podem ocorrer ao longo do tempo, o que adiciona mais complexidade na avaliação de seus efeitos. Alguns progressos têm sido feitos por alguns autores, que usando modelagem e simulações, permitem avaliar os impactos a longo prazo (DEGEN et al., 2006; SEBBENN et al., 2008). Seus resultados predizem a perda significativa do número de alelos depois de pelo menos seis ciclos de seleção. Por outro lado, um estudo comparando os efeitos do corte seletivo de árvores sobre a diversidade genética de uma população de *Carapa guianensis*, na Amazônia Brasileira, observou a perda de alelos raros, porém, uma ausência de efeitos sobre a heterozigosidade observada e esperada

(CLOUTIER et al., 2007). Adicionalmente, os autores não observaram alterações significativas na taxa de cruzamento multilocos e unilocos e correlação de paternidade. Outros estudos, no entanto, observaram mudanças no sistema de reprodução devido ao corte seletivo de árvores em espécies arbóreas tropicais. Por exemplo, em *Shorea magistophylla*, *Pterocarpus macrocarpus*, *Tabebuia cassinoides*, e *Shorea curtisii*, foi observado um aumento na taxa de autofecundação devido à redução na densidade populacional após a exploração (MURAWSKI et al., 1994; LIENGSIRO et al., 1998; SEBBENN et al., 2001; OBAYASHI et al., 2002). Murawski et al. (1994) observaram em *Shorea magistophylla* um aumento na endogamia biparental de uma população manejada. No entanto, Sebbenn et al. (2001) estudando *Tabebuia cassinoides* encontraram uma redução na endogamia biparental devido ao corte seletivo, mas aumento na taxa de cruzamentos correlacionados. Os autores atribuíram a redução na endogamia biparental à redução na estrutura genética espacial devido à alta intensidade de exploração realizada.

2.4. A Floresta Nacional Do Tapajós

A Floresta Nacional do Tapajós (Flona) com uma área de 600.000 hectares, está localizada no município de Belterra, no Estado do Pará, Região Norte do Brasil (Fig.1). A Flona está situada ao Norte no Km 50 da Rodovia Cuiabá – Santarém, e ao Sul até Km 270 da mesma rodovia. Seus limites nas partes Oeste e Leste são, respectivamente, o rio Tapajós e assentamentos de colonização realizados pelo Incra (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária) ao longo da rodovia Cuiabá - Santarém.

Após a criação da Flona em 1974 pelo Decreto federal nº 73.684, permaneceram em seu interior 1100 famílias, com aproximadamente 6000 habitantes, que vivem nas cinco áreas populacionais definidas assim pelo zoneamento ecológico do plano de manejo da unidade elaborado em 2004, distribuídas atualmente em 28 comunidades, uma sede municipal e em alguns lotes isolados ao longo da BR-163, vivem principalmente da pesca, da caça, do cultivo de mandioca, milho, arroz e feijão para subsistência, da criação de animais e da extração de produtos florestais não-madeireiros (CORDEIRO, 2004; COHENCA, 2007).

A Floresta Nacional do Tapajós por se constituir em uma unidade de conservação, está inserida dentro das definições e objetivos do SNUC (Sistema Nacional de Unidades de Conservação). Para todas Florestas Nacionais brasileiras sob responsabilidade do Ibama, é permitida e ao mesmo tempo são incentivadas realizações de pesquisas dirigidas para diferentes li-

nhas do conhecimento científico, como também, no desenvolvimento de sistemas de manejo florestal. Em função disso, em 1999 foi aprovado um projeto de manejo para produção sustentável em uma área de 3.222 hectares, sob o regime de concessão, com a filosofia de manejo florestal de impacto reduzido. Essa área está localizada no Km 83 da Rodovia Cuiabá-Santarém. Esse projeto foi realizado a partir de um convênio entre o ITTO (International Tropical Timber Organization) e o IBAMA.

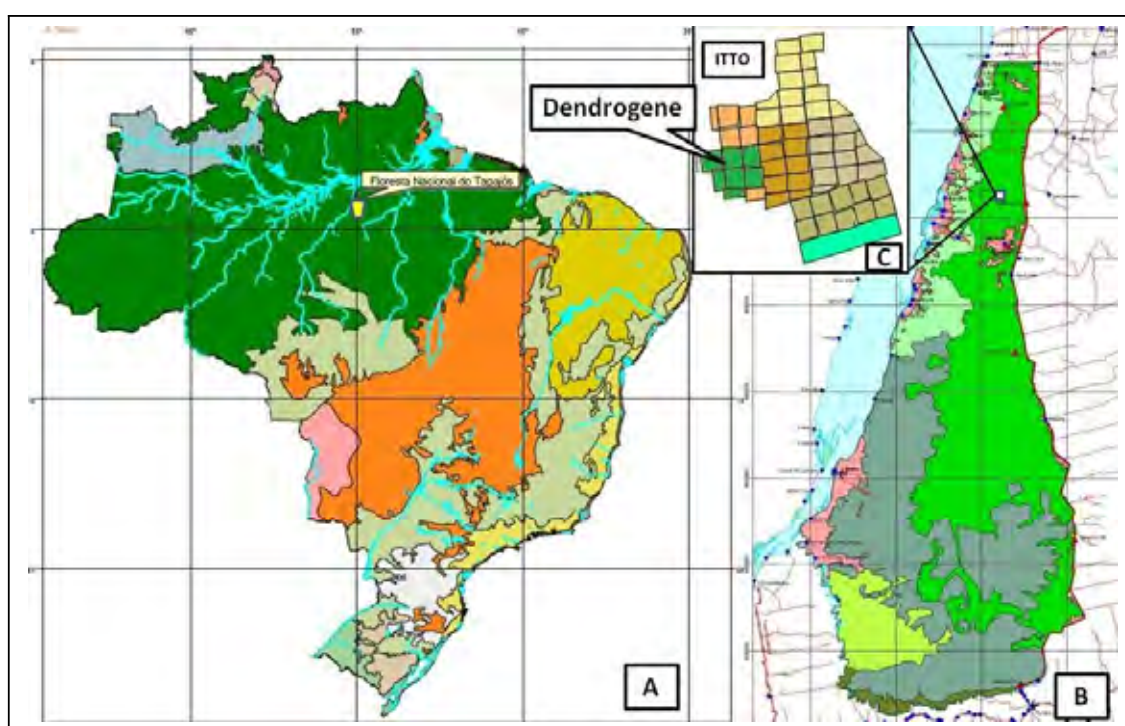


Figura 2. A) Foto do mapa do Brasil com a Floresta nacional do Tapajós em amarelo; B) Flona do tapajós com a localização da área de estudo marcada com um quadrado branco; C) Área do ITTO, com a parcela de estudos do Dendrogene em verde escuro. (ADAPTADO DO MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2010).

2.5. O ISP Dendrogene.

Nessa mesma área, visando dar suporte científico para o manejo florestal, referente à conservação genética em áreas manejadas, foi instalado o projeto Dendrogene, em uma área de 564 hectares (dentro da área maior de 3.222 hectares), divididos em seis blocos, sendo quatro de 100 ha, um 60 ha e outro de 40 ha (Fig.3). As atividades na área de pesquisa denominada de Parcela de Estudos Intensivos – ISP foram iniciadas em 2001 e se estendeu

mais intensamente até o fim de 2004, envolvendo estudos de biologia reprodutiva, ecologia e genética.

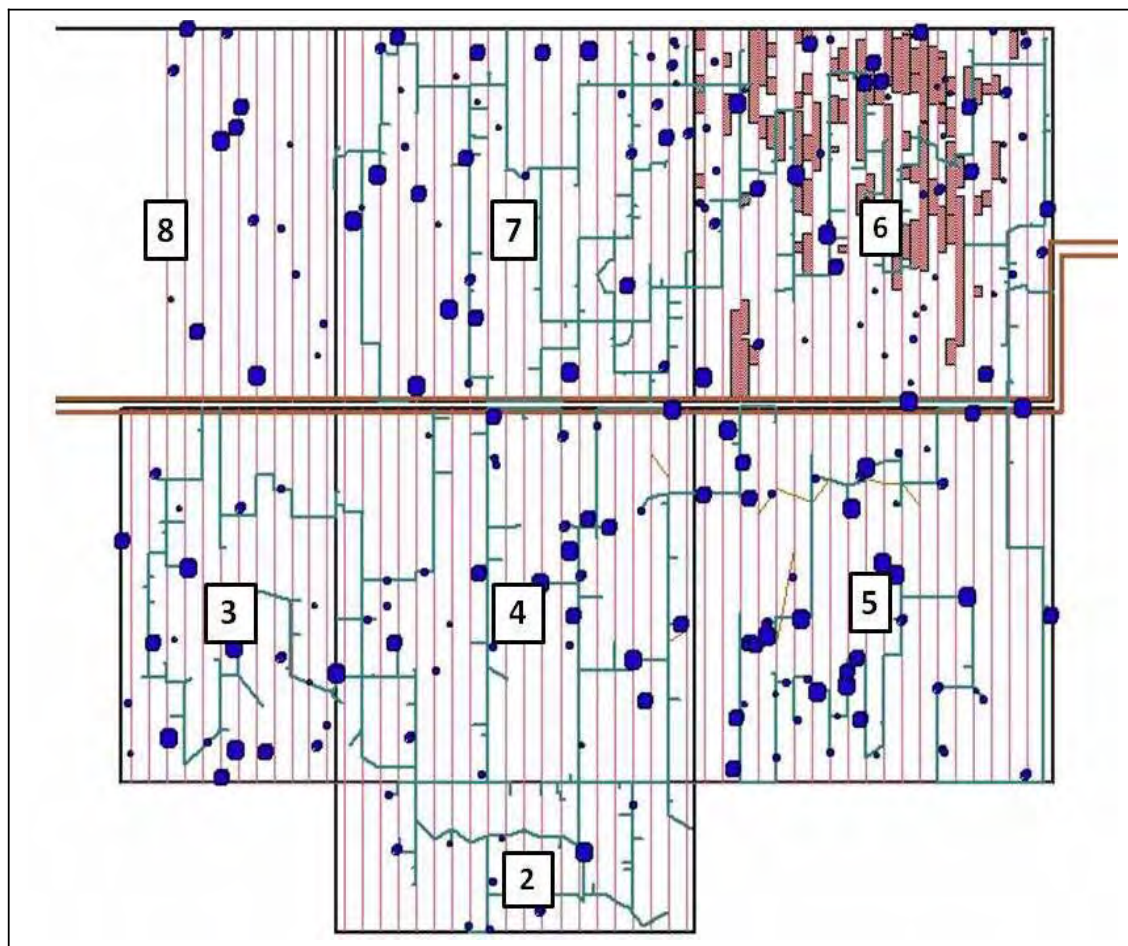


Figura 3. Área de estudos intensivos do projeto Dendrogene, mapa de fenologia de *Hymenaea Courbaril* L.

Durante o período de agosto a dezembro de 2003 nessa área houve uma colheita florestal por uma empresa local chamada empresa Agropecuária Treviso Ltda. usando técnicas para uma exploração sustentável seguindo as normas brasileiras como parte de um projeto realizado entre o IBAMA e ITTO (Projeto PD 68/89) (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE- IBAMA, 2007). Segundo Vinson 2009, As seguintes regras foram aplicadas durante a colheita florestal na FLONA do Tapajós: (1) um máximo de 40 m³ de madeira pode ser removido por ha; (2) o diâmetro mínimo para corte foi de 45 centímetros para todas as espécies, com exceção de *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Caryocar villosum* (piquiá) e *Ceiba pentandra* (sumaúma), que tinha o diâmetro de corte mínimo de 75cm; (3) a colheita de palmeiras foi proibida, (4) um mínimo de 10% das árvores acima do diâmetro mínimo de corte foram mantidos para a produção de sementes.

Durante o projeto Dendrogene, foi feito um inventário florestal de mais de 3000 indivíduos tendo um total de 303 espécies identificadas no interior do ISP (LACERDA, 2007). Todos os indivíduos com DAP maior que 45 cm foram mapeados e tiveram acompanhamento fenológico sendo que sete espécies modelos foram selecionadas para estudos de ecologia de crescimento, ecologia reprodutiva e diversidade genética de populações arbóreas, entre elas o Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) (WORKSHOP, 2000).

2.4. A espécie *Hymenaea courbaril* L.

Hymenaea courbaril L. é uma espécie clímax demandante de luz, hermafrodita e polinizada por morcegos do gênero *Glossophaga*, os frutos maduros são muito apreciados por roedores, aves e macacos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA, 2004). A sua distribuição natural é ampla abrangendo desde a costa ocidental do México até a Bolívia e centro-sul do Brasil, passando pelo Caribe.

Embora a espécie tenha uma ampla distribuição geográfica na América do Sul e Central, esta ocorre em baixa densidade (< 1 árvore/ha), sendo muito dispersa nas matas de terra firme e se tornando rara com distribuição irregular (LACERDA et al., 2008a).

Hymenaea courbaril L., popularmente conhecida como jatobá ou jatobazeiro, floresce durante a estação seca e frutifica depois de 3 a 4 meses. No Pará (Amazônia Oriental), a espécie floresce entre março e maio e frutifica entre agosto e outubro; na Amazônia Central, frutifica de fevereiro até setembro (CLAY et al. 2000); no Acre (Amazônia Ocidental), de maio a setembro (ALMEIDA, 1999). Segundo Lorenzi (2000), o fruto de *Hymenaea courbaril* L. é uma vagem indeiscente, de forma subcilíndrica, de 5-15 cm de comprimento, com uma casca dura e quebradiça, de cor variando do marrom ao vermelho-castanho. Contém 1-6 sementes duras envoltas por uma polpa seca, farinácea, adocicada, comestível, de sabor e cheiro muito característicos. A dispersão dos frutos é realizada basicamente por gravidade, onde a grande maioria dos frutos permanecem sob o dossel da árvore (LACERDA, 2007).

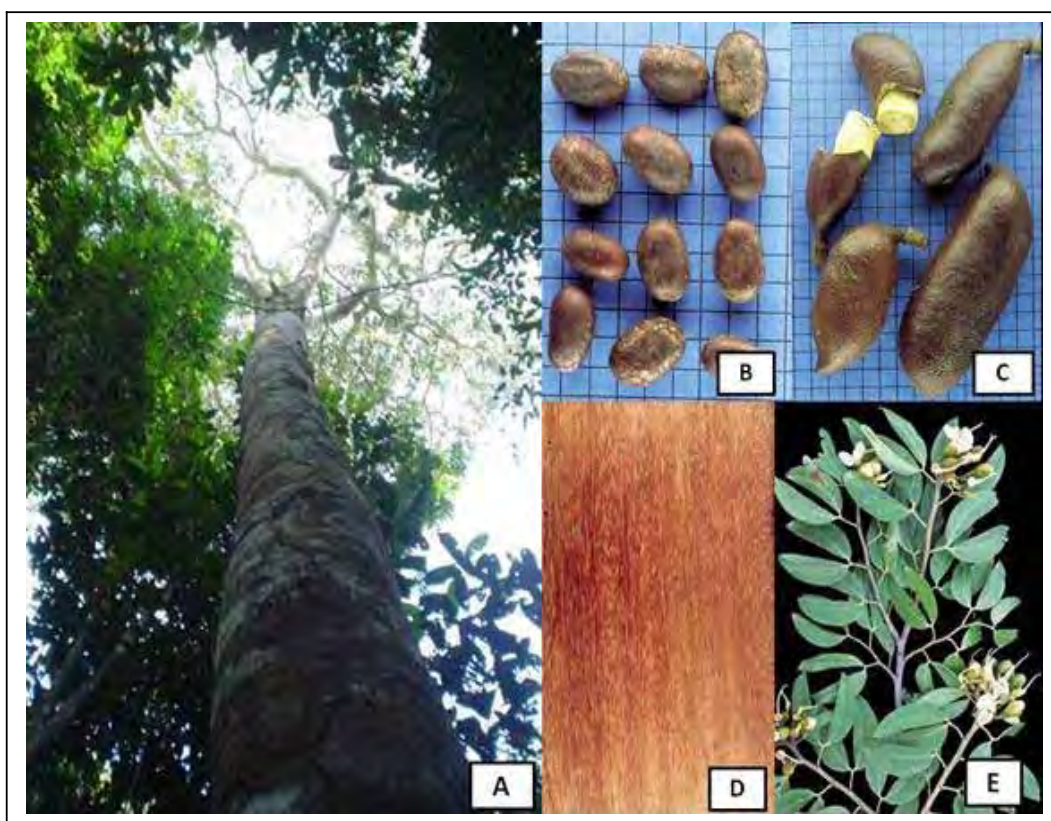


Figura 4. Fotos de *Himenaea courbaril* L.; A) Fuste ; B) Sementes; C) Frutos; D) Madeira; E) Folhas e flores. (Foto adaptada LORENZI, 2000).

A madeira do jatobá é de excelente aceitação no mercado interno e externo devido a sua durabilidade, é dura e pesada e não apresenta rachaduras, sendo utilizada na construção civil. A madeira é moderadamente fácil de ser trabalhada, podendo ser aplainada, colada, parafusada e pregada sem problemas, apresentando contudo resistência para tornear e faquear. O acabamento é bom, aceitando pintura, verniz e lustre (JANKOWSKY, 1990). O fruto do jatobá pode ser consumido naturalmente ou, de sua polpa, faz-se farinha e gemada, usada para aliviar problemas pulmonares, além da casca que é usada em algumas regiões para fazer chá contra gripe, bronquite, cistite, catarro no peito, diarreia, vermes, fraqueza, cólicas, infecções na bexiga, para ajudar na digestão e no tratamento de câncer de próstata. Além disso, a casca da árvore ou mesmo do fruto pode combater a tosse.

Segundo Shanley (2005) a seiva do jatobá possui alto valor comercial devido ao uso como combustível, remédio, verniz vegetal, polimento e impermeabilizador de madeira, e também tem poder medicinal, serve como tônico, remédio para problemas respiratórios e urinários e como fortificante, quando entra em contato com o oxigênio a seiva se torna uma resina chamada jutaicica, e é normalmente encontrada no pé da árvore, a mesma é usada para aliviar as dores no estômago e flatulência, para fazer inalação no caso de resfriados e dores de

cabeça, além de ser um ótimo verniz vegetal, geralmente usado nas louças de barro, a folha possui uma substância química, terpenoide, que mata fungos e repele as saúvas .

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (1995) a espécie *H. courbaril* enquadra-se em duas categorias de recursos genéticos florestais importantes para conservação “in situ”: O de espécies arbóreas de interesse econômico e o de espécies de importância para sustentabilidade do ecossistema.

A espécie *H. courbaril* L. é alógama , com indícios de auto-incompatibilidade (Bawa , 1974) devido ao processo de rejeição pós-zigótica (GIBBS et al., 1999). O número de cromossomos em *H. courbaril* é $2n = 24$, o mesmo de todo o gênero *Hymenaea* (LEE; LANGENHEIM, 1975).

2.5. A polinização de *Hymenaea courbaril* L.

Polinização e dispersão são processos ecológicos críticos que afetam diretamente o sucesso reprodutivo das plantas, podendo sua ruptura levar à perda de espécies vegetais (MACHADO; LOPES, 2004). O raio de dispersão de pólen nas populações arbóreas varia em função do agente polinizador. O alcance de vôo determina a distância do fluxo de pólen, o que pode ser fator limitante ao sucesso reprodutivo de espécies arbóreas em áreas fragmentadas (MAUÉS, 2010). A capacidade de movimento de pólen por longa distância pode ser fundamental para as plantas em uma paisagem fragmentada, onde a consanguinidade e deriva genética ameaçam a sobrevivência das populações. Em plantas polinizadas por morcegos, pode ser esperado altos níveis de fluxo gênico devido os morcegos serem capazes de voar por longas distâncias (DUNPHY et al., 2004). Mesmo em face da fragmentação do habitat, muitas espécies de morcegos continuam a visitar plantas em fragmentos florestais, voando facilmente em áreas abertas (LAW et al., 1999). Em fragmentos de florestas tropicais da Austrália os morcegos voavam por até 5,8km (média de 1 km) em áreas desmatadas (LAW; LEAN, 1999). Segundo estudos de Dunphy et al. (2004), o “Home range” dos morcegos era de 12-1796 hectares com múltiplos segmentos de florestas, os morcegos se alimentavam por 1,2 minutos por árvore (mais que as aves) e frequentemente se deslocavam mais de 200 m entre as árvores, indicando a possibilidade de movimento de pólen em longa distância .

Recentes estudos de fluxo gênico através de técnicas como a análise de paternidade forneceram evidências diretas em várias espécies de que o fluxo gênico pode ocorrer ao longo de distâncias consideráveis (DOW; ASHLEY 1996, 1998; NASON et al.; STACY et al.,

1996; LOVELESS et al., 1998). Muitas vezes, mais de um quarto de toda a bem-sucedida polinização envolve o pólen de fora de uma população, com o pólen viajando frequentemente mais de 1 km (HAMRICK; NASON 2000). O movimento de pólen de longa distância propiciados pelos morcegos podem ser especialmente importante na manutenção da diversidade genética nos descendentes desta espécie.



Figura 5. Morcego: A) Com pólen no pêlo; B) Se alimentando do néctar na flor. (Adaptado: COSMOS,2007; FLOWERS,PLANTS N BLOOMS,2009).

As flores de *Hymenaea courbaril* L. na Amazônia abrem depois das 22 horas, o que significa que as condições ideais de polinização se concentram à noite. Notívagos, os morcegos são os principais polinizadores dessa espécie, visitando as flores para consumir o néctar, acabam por transportar o [pólen](#) de uma flor a outra, ajudando assim na reprodução das plantas visitadas (DUNPHY et al., 2004). Lacerda (2007), constatou que a distância média do fluxo de pólen dentro desta área de estudo foi de 863 m que é comparável aos resultados encontrados por outros espécies de baixa densidade em florestas tropicais. O comportamento dos polinizadores de *H. courbaril*, com uma densidade menor que 0,4 árvores/ha, tem uma polinização duas vezes maior do que o valor descrito para *Jacaranda copaia*, que tem uma densidade de 1,1 árvores/ha e seu pólen é disperso por insetos (JAMES et al., 1998). O que comprova que os morcegos são potenciais polinizadores de longa distancia.

2.6. A Dispersão de *Hymenaea courbaril* L.

A dispersão das sementes pode ocorrer em grandes distâncias quando levadas por pássaros, morcegos ou pela água, ou bastante restrita, quando o agente é a gravidade ou o vento e independente da forma que ocorra, envolve relações bastante específicas entre a planta e seu agente dispersor, possibilitando a manutenção da dinâmica, estrutura e diversidade do ecossistema. (VAN DER PIJL, 1982). Lacerda (2006) observou na flona do tapajós, que animais como macacos e araras estão ativamente envolvidos na dispersão de frutos de *Hymenaea courbaril* L.. Roedores como ratos de espinho (*Proechimys simonsi*), Cutiaras (*Myoprocta pratti*) e cutias (*Dasyprocta fuliginosa*) foram considerados importantes dispersores em estudo na Amazônia Peruana que comprovou que a maior parte dos frutos são abandonadas ou consumidas próximo da origem, a maior parte das sementes dispersas foi enterrada, o que favorece a germinação, e a distância máxima de dispersão de sementes vivas foi de 12,1 m, outras sementes foram transportadas até 34 m, indicando que as sementes foram consumidas e dispersas em uma maior distância (GORCHOV et al. 2004), tais valores de dispersão foram semelhantes aos relatados para a dispersão de *H. courbaril* por cutias na Venezuela (ASQUITH et al., 1999) e na Costa Rica durante a estação seca (HALLWACHS, 1986).

Orwa et al (2009) informaram que na América Central e do Sul, as sementes são transportadas por cutias e queixadas, sendo que esses animais abrem as vagens para comer a polpa do fruto e as sementes. Shanley (2005) registra que na Amazônia, roedores como cutias, pacas, antas e veados se alimentam da polpa dos frutos, ajudando assim na dispersão da espécie na floresta. Hallwachs (1986) considera as cotias (*Dasyprocta azarae*) e pacas (*Agouti paca*) como os mamíferos mais eficientes na dispersão secundária de sementes, visto que esses organismos costumam enterrar vagens e sementes no solo, tornando-as mais protegidas da predação. Jansen (1975) e Asquith et al. (1999) também salientam a importância desses dois animais para a germinação de sementes e recrutamento de plântulas da espécie. A distância da dispersão de sementes por pacas pode chegar a 6 m e por cotias a até 225 m (ASQUITH et al., 1999; HALLWATCHS, 1986).



Figura 6. Dispersores de *Himenaea courbaril* L. A) Cutia; B) Cutiara; C) Anta; D) Porco do mato; E) Veado; F) Rato de espinho.

Onde estão ausentes as cutias, as vagens tendem a permanecer abaixo da árvore, e mudas são raras (ASQUITH et al. 1999). Hallwachs (1986) prevê que *H. courbaril* poderá ser extinta em áreas com predadores de sementes e sem cutias para enterrar as vagens e sementes.

3. Material e Métodos

3.1. Características do local de estudo

A Floresta Nacional do Tapajós possui uma área de 544.927 hectares (600 mil hectares no decreto de criação), abrangendo os municípios de Aveiro, Belterra, Placas e Rurópolis, todos no estado do Pará. As coordenadas geográficas da área são: 2°45' a 4°10' S e 54°45' a 55°30' W. O clima é classificado como Ami no sistema Köppen, ou seja, tropical úmido com variação térmica anual inferior a 5°C. No sistema Gaussen, o clima é classificado como Xeroquimênico, apresentando temperaturas mais baixas superiores a 15° e um período seco de até 40 dias. Dados climáticos coletados em Belterra registraram temperatura média anual de 25,5°C, máxima de 30,6°C e mínima de 21,0°C. Na região da Flona predominam os Latossolos Amarelo Distróficos, solos profundos e com baixa capacidade de troca catiônica (COR-

DEIRO,2004). A área é coberta pela floresta tropical densa onde as copas das árvores atingem até 60 m de altura ou mais, com vários estratos não uniformes e com alto potencial madeireiro. A vegetação é usualmente muito densa com várias palmeiras, espécies arbóreas e arbustos ocupando os estratos inferiores; as famílias mais comuns são as Lecythidaceae, Sapotaceae, Leguminosae, Moraceae, entre outras (LACERDA,2007).

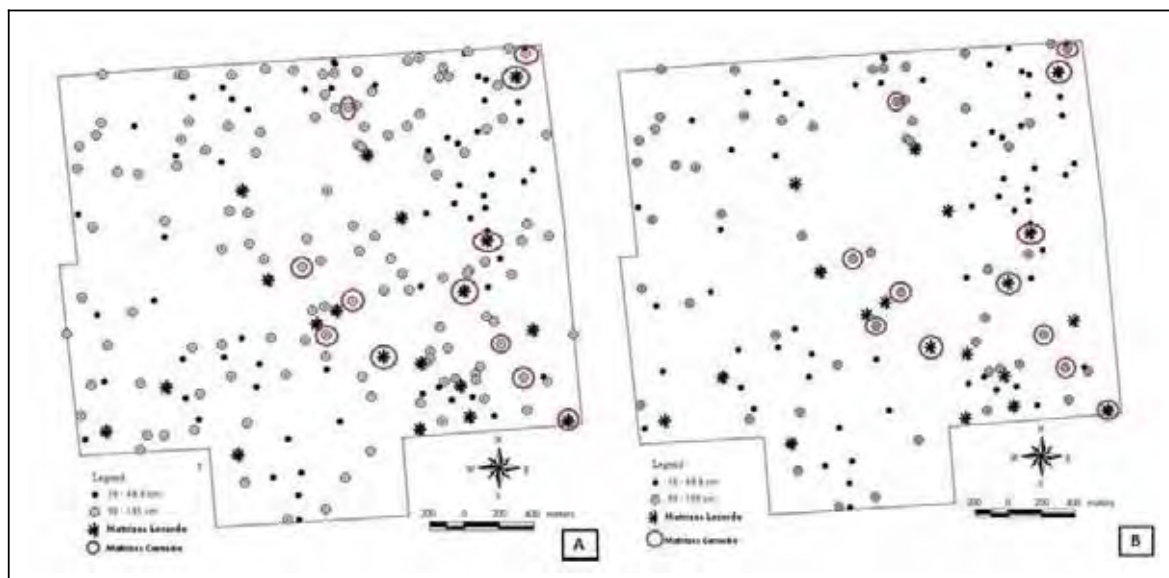


Figura 7. Distribuição espacial de árvores de *Hymenaea courbaril* (DAP ≥ 10 cm) antes (a) e após o corte seletivo de árvores (b) em uma parcela experimental de 546 ha na Floresta Nacional do Tapajós (Fonte adaptada: LACERDA, 2007).

O estudo foi conduzido em uma parcela experimental de 546 ha divididos em seis blocos sendo os blocos 4, 5, 6 e 7 de 100 ha, o bloco 3 com 60 ha e o bloco 2 com 40 ha e o bloco 8 com 46 ha (Figura 7) situado no km 83 da BR 163 na Floresta Nacional do Tapajós entre as coordenadas geográficas de latitude $3^{\circ}20'60''$ e $3^{\circ}44'36''$ S e longitude $54^{\circ}99'10''$ e $55^{\circ}01'61''$ W. A área passou por uma exploração de impacto reduzido (EIR) realizado entre os meses de agosto e dezembro de 2003.

3.2. Amostragem

Como este estudo é uma continuidade do prévio realizado durante a fase I (Antes da exploração florestal) do projeto Dendrogene, todas as árvores adultas reprodutivas já tinham sido amostradas e avaliadas para os nove locos microssatélites, bem como sementes de polinização aberta também já foram coletadas e genotipadas antes da exploração (LACERDA et al., 2008a, b), para esse trabalho foram amostradas apenas sementes de polinização aberta pós-exploração que foram coletadas durante os meses de junho a agosto de 2008. Devido a

baixa produção de frutos por determinadas árvores, a predação por insetos que perfuram as sementes e mamíferos que se alimentam do fruto, obtivemos amostras de frutos de somente 16 árvores matrizes, porém para esse estudo usamos 14 árvores matrizes devido as outras 2 não terem frutos suficientes para uma boa amostragem. Os frutos foram quebrados, lavados e plantados em um viveiro particular situado no município de Belterra-PA, depois de germinadas, foram coletados quatro folhas de cada plântula e as mesmas foram colocadas em sacos de papel devidamente identificado com o número da árvore matriz e data da coleta, os sacos foram colocados em uma caixa de plástico contendo sílica gel, as amostras foram transportadas para o laboratório de genética molecular do INPA, em Manaus-AM.

3.3. Extração, quantificação e diluição do DNA

A extração do DNA de *H.courbaril* foi feita utilizando-se o protocolo de extração de tecidos vegetais CTAB brometo de cetiltrimetilamônio (DOYLE; DOYLE, 1987) otimizado por Ferreira e Grattapaglia (1998). O material vegetal foi macerado utilizando-se um disruptor celular FAST PREP (Qbiogene, USA). A quantificação do DNA extraído foi feita por comparação com padrões de massa molecular conhecida, utilizando-se DNA do bacteriófago *Lambda* (50 ng, 100 ng e 200 ng de DNA) após eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Os géis foram analisados em transluminador sob luz ultravioleta e fotodocumentados. Após a quantificação, as amostras do DNA extraído foram diluídas em água ultra-pura e padronizadas a uma concentração de 2,5 ng/μL.

3.4. Análise de locos microssatélites

Os nove locos microssatélites desenvolvidos para a espécie por Ciampi et al. (2000) foram utilizados neste estudo. A amplificação foi feita via PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) utilizando-se tampão de PCR 1% (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 1,25 mM (NH₄)₂SO₄ e 2,5 mM MgCl₂), 0,19 μM de DNTp, 0,24 μg/μl de BSA, 0,7 unidades de Taq polimerase, 0,3 μM de cada *primer* e 10ng de DNA. O volume final da reação foi de 10μl. As amostras foram desnaturadas a 94°C e submetidas a 30 repetições do seguinte ciclo: 30 seg. a 94°C, 1 min. a 56°C e 1 min. a 72°C. A temperatura de anelamento foi específica para cada *primer*. Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose 3,0%.

3.5 Genotipagem

Após as reações de PCR as amostras foram quantificadas e diluídas em água ultrapura de acordo com o produto da PCR de cada amostra. Utilizamos o sistema multiplex que possibilita a análise de vários locos de uma única vez. Os *primers* foram agrupados em três diferentes combinações, cada um marcado com diferentes cores de fósforo (FAM, NED e HEX) em que *primers* de similar tamanho foram marcados com diferentes fluorescências. Para a análise, usamos o seqüenciador automático ABI 3130 XL. Para detecção dos fragmentos amplificados, foi utilizado o marcador de peso molecular GeneScan 500 ROX (Applied Biosystems, Inc.), seguindo as instruções do fabricante. Os produtos da amplificação foram analisados por meio do software GeneMapper (Applied Biosystems, Inc.) para estimar o tamanho dos alelos e em seguida exportados para uma planilha do Excel.

Tabela 1.: Nome do primer, seqüência de oligonucleotídeos, número de repetições (n ° Rep), temperatura de anelamento (TA), produto do PCR dos locos utilizados para análise do genótipo *H. courbaril*. e () número do sistema multiplex utilizado para *Hymenaea courbaril*.

PRIME R	SEQUENCIA (5' to 3')	Nº. REP	T.A (°C)	PROD.PCR	DYE
Hc6	Forward: AACCGAGTCTCCCTCCATCT Reverse: TGCTGCAAACCCAGGGAACA	(CT) ₂₈	54	60-130	FAM(1)
Hc12	Forward: TGTTCCAATTTATGTCCATGGTT Reverse: TGGATGGTTGTGAAGAAAAGG	(TC) ₂₁	60	144-214	HEX(1)
Hc14	Forward: CATTCTGCCATCGGTAGGTT Reverse: TCACCCAAACAGGAGTGAA	(TC) ₁₇	50	108-177	FAM(2)
Hc17	Forward: TGATTTTCATTCCCCTCTTGC Reverse: GGTCAAAGAAAATGCTGGCT	(TC) ₁₃	60	100-150	HEX(2)
Hc25	Forward: TGCAATTCGACTTCTTGGTT Reverse: AAACACCGATTGACATTGTTTT	(TC) ₂₆	56	110-244	NED(1)
Hc33	Forward:GAACAAATCAACTTTCTTTGA- AGC Reverse: TTGACGCTTATTTTGACCA	(AG) ₁₆	58	110-160	FAM(3)
Hc34	Forward: CCAGCCCATGAACGAAGT Reverse: GGTGTCGTGTTGTGTATGGC	(TG) ₉ (AG) ₁₂	58	118-224	NED(2)

Hc40	Forward: CCTCTCTCCCAAATTCACGA Reverse: TGCAATAGAATTTCCGAGGC	(AG) ₂₆	60	169-215	HEX(3)
Hc42	Forward: TGGCTAAAAGTTGGGAGGGT Reverse: TTCCCCCTTTTCATGTTGTC	(CA) ₅ (AG) ₁₉	60	111-175	NED(3)

3.6. Análise de segregação dos locos

O estudo da herança dos locos SSR em *H. courbaril* foi realizado com base no método de análise descrito por Gillet e Hattermer (1989), que compara o genótipo de uma árvore materna heterozigota com a segregação de suas progênes de polinização aberta. Assume-se que os locos que apresentam segregação regular de seus genes estão sob a clássica herança Mendeliana, atendendo três requerimentos básicos: i) apresentam uma segregação meiótica regular durante a produção dos óvulos; ii) apresentam uma fertilização aleatória dos óvulos por cada tipo de pólen; iii) que entre o evento de fertilização e o momento de genotipagem das sementes, não ocorreu seleção devido a diferenças na viabilidade. Assumindo-se também que existe uma relação de co-dominância entre todos os alelos, o método prevê que as seguintes condições sejam satisfeitas: a) Toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe; b) Em casos de uma árvore mãe heterozigota (ex. A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i ou A_j ; ii) o número de progênies heterozigotas A_iA_j (n_{ij}) é esperado ser igual a soma das progênies homozigotas A_iA_i (n_{ii}) A_jA_j (n_{jj}), $n_{ij} = n_{ii} + n_{jj}$; iii) o número de progênies heterozigotas A_iA_k (n_{ik}) é esperado ser igual ao número de progênies heterozigotas A_jA_k (n_{jk}), $n_{ik} = n_{jk}$, com $k \neq i, j$.

Com base neste modelo e utilizando-se as progênies de polinização aberta, amostras das 14 árvores maternas, procedeu-se a comparação dos fenótipos observados em cada progênie de árvore materna heterozigota, para um dado loco, com o esperado pela hipótese de segregação regular mendeliana 1:1. A hipótese de segregação regular foi aceita ou descartada com base em um teste G padrão realizado para cada progênie. Em casos de desvios significativos da hipótese de segregação esperada 1:1, todos os testes G individuais de árvores maternas para o mesmo genótipo foram somados e um teste G total para a segregação 1:1 foi obtido ($G_{Total;1}$). Posteriormente, os fenótipos observados em progênies de árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto foram somados e um teste G agrupado foi obtido ($G_{1:1_{agrupado}}$). A hipótese nula do teste G agrupado é a de igual proporção dos tipos de gametas na

progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. Após, testou-se a hipótese de homogeneidade de segregação entre progênies, usando-se um teste G de heterogeneidade ($G_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste G agrupado ($G_{Agrupado\ i:1}$), do teste G total ($G_{Total\ i:1}$). Esses testes G são aditivos de forma que $G_{Total\ i:1} = G_{Heterogeneidade} + G_{Agrupado\ i:1}$, com n , $n-1$ e 1 grau de liberdade, respectivamente.

3.7. Análise de desequilíbrio de ligação

O teste de desequilíbrio gamético foi realizado para adultos, jovens e progênies utilizando-se o programa FSTAT (GOUDET, 1995). A hipótese $H_0: \Delta_{ij} = 0$ foi testada e a probabilidade do teste utilizada para determinar o desequilíbrio entre todos os pares de locos. Para evitar-se falsos positivos, foi utilizada uma correção de Bonferroni para 95% de probabilidade ($\alpha=0,05$). Adicionalmente, como este teste é sensível ao tamanho amostral, no caso das progênies, reamostrou-se aleatoriamente 55 plantas (o que corresponde ao tamanho amostral das árvores adultas) e o teste foi repetido, a fim de excluir-se o efeito do maior tamanho da amostra.

3.8. Teste de ligação entre os locos.

O estudo da ligação entre pares de locos foi realizado com base na pressuposição de que árvores maternas heterozigotas para dois locos ($A_iA_jB_iB_j$), na ausência de ligação, seleção e diferenças na viabilidade gamética, produzem igual proporção (teste 1:1:1:1) dos diferentes tipos gaméticos: A_iB_i , A_iB_j , A_jB_i e A_jB_j . Com base neste modelo e utilizando-se as progênies de polinização aberta e amostras das 14 árvores maternas, procedeu-se a comparação dos genótipos observados em cada progênie de árvore maternas duplamente heterozigota, com a expectativa de está ocorrendo a segregação regular mendeliana 1:1:1:1 conforme o esperado. A hipótese de segregação regular foi aceita ou descartada com base em um teste G padrão realizado para cada progênie.

3.9. Análise da diversidade genética e do índice de fixação

A diversidade genética foi caracterizada para três diferentes fases de desenvolvimento, adultos reprodutivos ($DAP \geq 48$ cm), não reprodutivos ($DAP < 48$ cm) e progênies. A

diversidade genética das amostras foi caracterizada pelos índices: número médio de alelos por loco (A), número efetivo de alelos por locos (A_e), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada segundo as proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e). Para fazer inferência nos níveis de endogamia foi estimado o índice de fixação (F). Para verificar se o índice de fixação diferia significativamente de zero foi utilizada uma reamostragem de genótipos por permutação (10000). Os índices de diversidade, o índice de fixação e as permutações foram calculados utilizando-se o programa FSTAT (GOUDET, 1995). Para verificar se estes índices diferiam entre as amostras, calculou-se o erro padrão da média a 95% de probabilidade com base em reamostragem Jackknife sobre locos. Para verificar o poder de resolução dos locos para análise de paternidade, estimou-se a probabilidade de exclusão de paternidade do segundo parente, quando um dos parentes é conhecido, no presente caso a árvore materna [$\Pr(Ex_2)$], utilizando o programa CERVUS 3.0 (MARSHALL et al., 1998; KALINOWSKI et al., 2007).

3.10. Análise da distribuição espacial dos genótipos

As análises da distribuição espacial intrapopulacional de genótipos foram realizadas utilizando-se o estimador do coeficiente de coancestria (θ_{xy}) proposto de Loiselle et al. (1995). O coeficiente θ_{xy} mede a extensão da similaridade entre os indivíduos X e Y, relativo à similaridade genética média entre dois indivíduos aleatórios da amostra (HARDY; VEKEMANS, 2003). O coeficiente θ_{xy} é definido para cada k -ésimo alelo do l -ésimo loco em cada par de indivíduos, x e y, como:

$$\hat{\theta}_{xy} = \left[\frac{\sum_l \sum_k (p_{xlk} - \bar{p}_{lk})(p_{ylk} - \bar{p}_{lk})}{\sum_l \sum_k \bar{p}_{lk}(1 - \bar{p}_{lk})} \right] + \left[\sum_l \frac{1}{(2n_l - 1)} \right],$$

em que p_{xlk} e p_{ylk} são as frequências do alelo k no loco l no indivíduo x e y , respectivamente (assumindo valores de zero, 0,5 e 1 em homozigotos para alelos alternativos, heterozigotos e indivíduos homozigotos para o alelo em consideração, respectivamente). $\bar{p}_{lk}$ é a frequência média do alelos k no loco l na população amostrada, em que n_l é o número de alelos existentes no loco l (número de indivíduos multiplicados pelo nível de ploidia, menos o número de alelos não amplificados). Para visualizar a estrutura genética espacial, os valores de θ_{xy} foram calculados para a média de pares de indivíduos dentro de classes de distância pré-determinadas. Foram usadas oito classes de distância de 250 m para análise dos adultos e

classes de diferentes distâncias para a análise dos regenerantes, procurando-se alocar um número similar de pares dentro de cada classe. Para testar se os valores médios eram significativamente diferentes de zero e existia estrutura genética espacial, o intervalo de confiança a 95% de probabilidade foi calculado para cada valor observado em cada classe de distância, usando permutação de indivíduos entre classes de distâncias (1000 permutações). O intervalo de confiança foi usado para construir o correlograma. As análises foram conduzidas utilizando o programa SPAGEDI versão 1.2 (HARDY; VEKEMANS, 2003).

3.11. Sistema de cruzamento

O sistema de cruzamento do evento reprodutivo após a exploração foi caracterizado pelos modelos misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989), utilizando o programa MLTR (RITLAND, 2002). Os parâmetros estimados foram: a) taxa de cruzamento multiloco (t_m); b) taxa de cruzamento uniloco (t_s); c) taxa de cruzamento entre aparentados ($t_m - t_s$); d) correlação de autofecundação, que em termos práticos mede a variação individual na taxa de cruzamento ou a probabilidade de se amostrar duas sementes de uma árvore mãe e ambas serem irmãos de autofecundação (r_s) e; e) a correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). O erro padrão dos parâmetros foi estimado por 1000 reamostragens *bootstrap*. Estas análises foram conduzidas em nível de população e de árvores matrizes, com exceção da correlação de autofecundação que foi estimada apenas em nível de população.

Da estimativa dos parâmetros do sistema de cruzamento foram estimados outros parâmetros genéticos como: número efetivo de árvores polinizadoras, $\hat{N}_{ep} = 1/r_{p(m)}$; proporção de pares de irmãos de autofecundação dentro de progênes, $\hat{P}_{IA} = \hat{s}$, em que s é a taxa de autofecundação ($\hat{s} = 1 - \hat{t}_m$); proporção de pares de meios-irmãos dentro de progênes, $\hat{P}_{MI} = \hat{t}_m^2 \hat{r}_{p(m)}$; proporção de pares de irmãos-completos dentro de progênes, $\hat{P}_{IC} = \hat{t}_m^2 (1 - \hat{r}_{p(m)})$ e; proporção de pares de irmãos de autofecundação e irmãos de cruzamentos dentro de progênes, $\hat{P}_{AC} = 2\hat{s}\hat{t}_m^2$. Também foi estimado o coeficiente médio de coancestria (Θ) entre plantas dentro de progênes e o tamanho efetivo de variância (N_e). O coeficiente médio de coancestria dentro de progênes foi estimado de acordo com o método de Sebbenn (2006), que acomoda cruzamentos entre parentes, autofecundações, variações na

taxa de cruzamento entre plantas, cruzamentos correlacionados e endogamia na geração parental. O cálculo em nível de população foi realizado utilizando-se a expressão:

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

Já em nível de progênes, a coancestria foi estimada utilizando a expressão:

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

Para o cálculo do coeficiente de coancestria da população parental que efetivamente se cruzou, partiu-se o índice de fixação das progênes (F_o) nos seus componentes devido à autofecundações (F_s) e cruzamento entre parentes ($F_{t_m-t_s}$), $F_o = F_s + F_{t_m-t_s}$, sendo a

endogamia advinda de autofecundação (s) estimada por $\hat{F}_s = 0,5\hat{s}(1+\hat{F}_p)$, em que $\hat{F}_p$ é o

coeficiente de endogamia na geração parental, e devido à endogamia advinda de cruzamento

entre parentes ($1-s$) estimada por $\hat{F}_{t_m-t_s} = \Theta_p$, de forma que, $\hat{F}_o = 0,5\hat{s}(1+\hat{F}_p) + (1-\hat{s})\Theta_p$.

Assim, de posse de F_o e F_s pode-se estimar $F_{t_m-t_s}$ por $\hat{F}_{t_m-t_s} = \hat{F}_o - \hat{F}_s$ e consequentemente conhece a coancestria média efetiva das árvores que se cruzarão (Θ_p) sem pressupor o equilíbrio de endogamia.

O tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) médio das progênes e individual por progênes foi calculado da variância amostral das frequências alélicas e utilizando uma população idealizada (infinitamente grande e panmítica, sem endogamia, seleção, mutação e migração) como referência:

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+F_p}{2n}} \quad (\text{COCKERHAM, 1969}),$$

em que n é o tamanho da amostra das progênies.

O número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes foi calculado utilizando-se a expressão:

$$\hat{m} = N_{e(\text{referência})} / \hat{N}_{e(v)} \quad (\text{SEBBENN, 2003}),$$

em que $N_{e(\text{referência})}$ é o tamanho efetivo de referência ou que se pretende reter na amostra das sementes. Esta estimativa é baseada em duas pressuposições: i) que as árvores matrizes onde será feita a coleta de sementes não são parentes entre si; ii) que as árvores matrizes amostraram um conjunto de pólen não sobreposto. Neste cálculo utilizou-se como tamanho efetivo de referência o valor de 150.

3.12. Diferenciação no conjunto de pólen cruzado.

Para quantificar a diferenciação no conjunto de pólen recebido pelas diferentes árvores matrizes foi feita uma análise TwoGENER utilizando o genótipo das progênies das 14 árvores matrizes. Como duas gerações (mãe e filhos) são utilizadas para esse cálculo, foi possível a quantificação da heterogeneidade entre os gametas masculinos amostrados pelas árvores maternas. Utilizando-se esse método, calculou-se a diferenciação global do conjunto gênico do pólen (Φ_{ft}) entre as árvores matrizes, por análise de variância (AMOVA; EXOFFIER et al., 1992) e utilizando-se o programa POLDISP (ROBLEDO-ARNUNCIO et al., 2007). Desta análise, o parâmetro Φ_{ft} foi calculado como uma correlação intra-classe (quanto maior a variação dentro das progênies, menor é a diferenciação entre):

$$\hat{\Phi}_{ft} = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_d^2 + \hat{\sigma}_a^2} \quad (\text{SMOUSE et al., 2001}),$$

em que σ_a^2 é a variação da frequência gênica no pólen entre as árvores matrizes e σ_d^2 é a variação da frequência gênica no pólen dentro de cada árvore matriz. O intervalo de 95 % de confiança entre todas as árvores matrizes Φ_{ft} foi estimado por permutação dos gametas masculinos entre os doadores de sementes (1000 vezes). Contudo, como o parâmetro Φ_{ft} pode ser superestimado devido à endogamia e autofecundação na população parentail (AUSTERLITZ; SMOUSE, 2001a), este foi corrigido com base em Austerlitz e Smouse

(2001b) para o coeficiente de endogamia na geração parental (F_p), por $\hat{\Phi}'_{ft} = \hat{\Phi}_{ft} / (1 + \hat{F}_p)$.

Já de acordo com Burczyk; Koralewski (2005) o parâmetro Φ_{ft} foi corrigido para a taxa de autofecundação (s) em que: $\hat{\Phi}''_{ft} = (2\hat{\Phi}'_{ft} - \hat{s}^2) / 2(1 - \hat{s})^2$.

3.13. Análise de paternidade.

As análises de paternidade de cada semente foi conduzida usando o método de máxima verossimilhança (MEAGHER; THOMPSON, 1986), comparando o genótipo das árvores adultas e as sementes de árvores maternas conhecidas, utilizando o programa CERVUS 3.0 (MARSHALL et al., 1998; KALINOWSKI et al. 2007). A paternidade de cada semente foi determinada pela estatística Δ , que é a diferença entre o LOD do candidato a pai mais provável, menos o segundo mais provável candidato a pai. Para encontrar o valor crítico de Δ foram conduzidas simulações, usando 50.000 repetições, 0,01 como a proporção com locos com erro e todas as árvores adultas reprodutivas ($n=55$) como candidatos a parental paterno. Foram utilizados os níveis de confiabilidade de 95% como restrito e de 80% como relaxado, conforme sugestão de Marshall et al. (1998). Se um candidato a pai de uma semente tinha um valor de Δ maior que o valor crítico de Δ , calculado das simulações, este foi considerado o verdadeiro pai. Se uma mesma árvore materna foi encontrada como o provável parental paterno, esta semente foi considerada como advinda de autofecundação. Assim, a estimativa da taxa de autofecundação (s) foi calculada como o número de progênies autofecundadas (n_{selfed}), dividido pelo número total de progênies amostradas (n): $\hat{s} = n_{selfed} / n$. Sementes que não tiveram nenhuma árvore identificada dentro da parcela como parental paterno foram assumidas como imigrantes e o verdadeiro pai deve estar fora da parcela. A probabilidade de determinar erroneamente um pai de uma semente dentro da parcela, quando o verdadeiro pai está fora da parcela (fluxo gênico crítico) foi calculada como descrito em Dow e Ashley (1996). A taxa de imigração de pólen na parcela (m) foi calculada como a proporção de sementes que não tiveram um parente paterno determinado dentro da parcela ($n_{immigrant}$) relativamente a número de sementes amostradas (n_{total}) (BURCZYK et al., 1996). Da análise de paternidade, a distância de dispersão de pólen foi calculada com base na posição da árvore matriz e do potencial parente dentro da parcela. Para determinar se a polinização é uma função da distância entre as árvores matrizes e os potenciais polinizadores, foram comparadas as frequências de distância entre todas as árvores potenciais polinizadoras

em relação às árvores matrizes com a distribuição de frequência de distância que ocorrerão os cruzamentos, usando o teste Kolmogorov-Smirnov (SOKAL; ROHLF, 1995).

Dos resultados da análise de paternidade também foi estimado o número efetivo de doadores de pólen não viciado (N_{ep}) para cada árvore matriz, como definido por Nielsen et al. (2003):

$$\hat{N}_{ep} = \frac{(n-1)^2}{\sum_{i=1}^{k_o} \hat{p}_i^2 (n+1)(n-2) + (3-n)},$$

em que $\hat{p}_i^2$ é a frequência observada de progênie filhas do pai i ($p_i = x_i/n$), x_i é o número de sementes filhas do pai i , e n é o tamanho da amostra. Do parâmetro N_{ep} foi calculado a correlação de paternidade como: $\hat{r}_p = 1/\hat{N}_{ep}$. De posse da taxa de autofecundação e da correlação de paternidade, foi estimado também o coeficiente de coancestria e o tamanho efetivo de variância como previamente descrito na análise do sistema de reprodução.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Herança e segregação

O teste G de máxima verossimilhança, após correção de Bonferroni, detectou diferenças significativas entre a segregação observada e a esperada 1:1, individual por árvore matriz, apenas para o loco HC33, em uma progênie (Tabela 2). O teste G total e agrupado para as duas matrizes analisadas para este loco não detectaram desvio de segregação. A segregação desse loco foi avaliada apenas para duas progênies, compostas por 13 e 18 plantas, e em uma, o teste não detectou diferenças significativas. Optou-se pela não eliminação deste loco, mas sugere-se estudar mais profundamente a segregação deste loco com base em uma amostra maior tanto em termos de número de progênies, bem como plantas dentro de progênies.

400131	170174	20	1:5	7:7	2,91	-
400440	174182	20	1:2	5:12	0,34	2,97
401048	166188	20	0:1	9:10	-	0,05
401169	160184	17	0:0	6:11	-	1,49
500182	170180	17	2:2	7:6	-	0,08
501383	180188	13	1:2	3:7	0,34	1,65
501785	168172	13	2:2	6:3	-	1,02
600959	168188	17	20	4:11	-	3,40
602696	174184	18	0:0	12:6	-	2,04
700119	168184	14	1:2	6:5	0,34	0,09

Continuação da Tabela 2.

Locus-Seed-tree	Genotype	<i>n</i>	$n_{ij}:n_{ii}+n_{jj}$	$n_{ik}:n_{jk}$	G_1	G_2
Hc34						
400131	188190	19	2:5	1:11	1,33	9,75
400440	190192	18	2:1	5:10	0,34	1,70
401048	164190	10	4:6	0:0	0,40	-
602696	190192	16	5:3	7:1	0,51	5,06
700119	190192	16	3:6	2:5	1,02	1,33
702357	190192	12	0:0	8:4	-	1,36
Hc33						
501785	108110	13	5:8	0:0	0,70	-
606001	108110	18	2:16	0:0	12,40*	-
Grouped	108110	31	7:24	0:0	9,86	
Hc17						
400131	106112	20	5:2	7:6	1,33	0,08
400440	110112	16	11:5	0:0	2,31	-
500182	106114	16	2:5	2:7	1,33	2,94
501383	106110	15	5:3	1:6	0,51	3,96
501785	106110	18	0:4	12:2	-	7,92
602696	106110	20	8:12	0:0	0,81	-
700119	110114	20	4:4	7:5	0,00	0,33
Hc25						
400131	120152	20	1:7	6:6	5,06	-
401048	122152	18	2:7	1:8	2,94	6,20
600959	122154	17	2:5	1:9	1,33	7,36
602696	120154	16	1:9	2:4	7,36	0,68
606001	122150	15	0:2	8:5	-	0,70

Probabilidade para a correção de Bonferroni ($\alpha=0,05$)=0,00058 ($\chi^2_{criptico}=11,05$).

4.2. Teste de desequilíbrio de ligação entre os pares de locos

Devido à sensibilidade do teste de desequilíbrio gamético ao tamanho da amostra (quanto maior o tamanho da amostra, maior a sensibilidade do teste), este foi realizado separadamente para os indivíduos considerados não reprodutivos (DAP<48 cm), adultos reprodutivos (DAP≥48 cm), progênies e uma sub-amostra das progênies (n=55), de tamanho similar a amostra dos não reprodutivos e adultos (Tabela 3). Após a correção de Bonferroni, foram observados indícios de desequilíbrio gamético entre sete pares de locos (HC6XHC42, HC6XHC17, HC42XHC40, HC42XHC17, HC40XHC17, HC40XHC25 e HC34XHC33), apenas na amostra de progênies. Tais desvios podem ser causados, como previamente comentado, pelo efeito do grande tamanho amostral (n=250), por ligação física entre os locos (ocorrem no mesmo grupo de ligação dentro dos cromossomos), por deriva genética, seleção natural, imigração, cruzamentos entre parentes e autofecundações. Contudo, quando o teste

foi aplicado sobre uma sub-amostra de 55 plantas, o teste não se apresentou significativo para nenhum dos pares de locos, o que indica que o aparente desequilíbrio previamente observado era um artefato do grande tamanho amostral. Isso indica que este conjunto de locos pode ser utilizado para estudos da estrutura genética, sistema de reprodução e fluxo gênico contemporâneo com a espécie *H. courbaril*.

Tabela 3. Desequilíbrio de ligação entre os locos em diferentes fases ontogênicas de *Hymanaea courbaril* L. Os valores na tabela são as probabilidades após 1000 permutações. O valor limite de significância após correção de Bonferroni é 0,000347.

	Não reprodutivos (DAP<48 cm)	Adultos (DAP≥48 cm)	Progênes (n=250)	Progênes (n=55)
Pares de locos				
HC6XHC12	0,85417	0,02083	0,00486	0,52847
HC6XHC42	1,00000	0,16389	0,00035	0,12396
HC6XHC14	0,81007	0,54931	0,71181	0,87743
HC6XHC40	0,52049	1,00000	0,00278	0,06389
HC6XHC34	0,06181	0,00104	0,06806	0,05451
HC6XHC33	0,01146	0,26250	0,17118	1,00000
HC6XHC17	0,62396	0,63889	0,00035	0,26042
HC6XHC25	0,26285	0,70938	0,13576	0,42014
HC12XHC42	0,14722	0,81076	0,13229	0,70938
HC12XHC14	0,05313	0,74479	0,41007	0,06667
HC12XHC40	0,89514	0,98090	0,00104	0,37708
HC12XHC34	0,06632	0,05660	0,06424	0,09514
HC12XHC33	0,96285	0,79479	0,44479	0,94201
HC12XHC17	0,51840	0,61840	0,04132	0,01563
HC12XHC25	0,43924	0,99688	0,61007	0,52813
HC42XHC14	0,11354	0,82674	0,22569	0,56979
HC42XHC40	1,00000	0,55278	0,00035	0,02083
HC42XHC34	0,11215	0,12951	0,01875	0,74583
HC42XHC33	0,46111	0,28160	0,02986	0,97361
HC42XHC17	0,34931	0,36493	0,00035	0,02604
HC42XHC25	1,00000	0,85104	0,01042	0,05625
HC14XHC40	0,36076	0,25625	0,03611	0,05417
HC14XHC34	0,14826	0,78125	0,42049	0,89826
HC14XHC33	0,16528	0,60938	0,32674	0,93611
HC14XHC17	0,05451	0,50208	0,18785	0,18715
HC14XHC25	0,91563	0,60069	0,30278	0,84583
HC40XHC34	0,34028	0,89861	0,02188	0,01910
HC40XHC33	0,66042	0,61910	0,00799	0,55139
HC40XHC17	0,76389	0,30104	0,00035	0,00903
HC40XHC25	0,74340	1,00000	0,00035	0,74792
HC34XHC33	0,31632	0,00104	0,00035	0,91736
HC34XHC17	0,06389	0,00139	0,09757	0,08993
HC34XHC25	0,32535	0,30972	0,15625	0,04722
HC33XHC17	0,13472	0,77396	0,08264	0,46354
HC33XHC25	0,75486	0,04896	0,20347	0,05833
HC17XHC25	0,64653	0,45799	0,01632	0,20208

4.3. Teste de ligação entre os pares de locos.

Para confirmar a independência de segregação dos alelos dos diferentes locos, realizou-se um teste de ligação entre pares de locos, utilizando-se as informações genéticas de árvores matrizes duplamente para dois locos e observando-se a segregação em suas progênies (Tabela 4). Após a correção de Bonferroni, dos 106 testes realizados, apenas oito (7,4%) foram significativos e indicaram a presença de ligação entre locos. Contudo, em quase todos os casos, os testes foram significativos para diferentes pares de locos e em apenas uma progênie e um número maior de progênies para estes mesmo pares de locos se ajustaram a segregação Mendeliana 1:1:1:1. Assim, conclui-se que estes locos não estão ligados e os poucos desvios observados podem provavelmente ser atribuídos a problemas amostrais, como pequeno número de plantas amostradas por progênies ($n=20$). Estes resultados confirmam o teste de desequilíbrio gamético que sugeriu que os nove locos aqui analisados estão em equilíbrio de ligação e os alelos de diferentes locos segregam de forma independente. Portanto, estes locos podem ser utilizados para quantificar a estrutura genética, o sistema de reprodução e o fluxo gênico contemporâneo de populações da espécie.

Tabela 4. Teste de G de máxima verossimilhança para a hipótese de segregação independente (1:1:1:1) entre pares de locos em *Hymenaea courbaril* L. Probabilidade para a correção de Bonferroni para $\alpha=0,05$, $0,00029 (\chi^2_{criptico}=12,11)$.

Loco	Matriz	G	Loco	Matriz	G	Loco	Matriz	G	Loco	Matriz	G	Loco	Matriz	G						
Hc6xHc12	700119	7,14	Hc12xHc42	401048	1,45	Hc14xHc40	40013	1	5,38	Hc40xHc34	40116	9	0,57	Hc42xHc14	50138	3	7,65	Hc34xHc17	602696	1,55
Hc6xHc12	702357	4,95	Hc12xHc42	401169	0,25	Hc14xHc40	50234	8	4,87	Hc40xHc34	40044	0	3,29	Hc42xHc14	40013	1	16,74*	Hc34xHc17	700119	3,72
Hc6xHc42	400440	3,27	Hc12xHc42	700119	0,78	Hc14xHc40	70011	9	0,39	Hc40xHc34	60269	6	2,16	Hc42xHc40	40044	0	2,45	Hc34xHc17	400440	5,71
Hc6xHc42	500182	4,03	Hc12xHc42	702357	0,68	Hc14xHc34	40013	1	*	Hc40xHc34	70011	9	0,51	Hc42xHc40	40104	8	3,40	Hc34xHc17	400131	9,90
Hc6xHc42	700119	2,70	Hc12xHc14	700119	3,18	Hc14xHc34	50234	8	0,90	Hc40xHc34	40013	1	9,86	Hc42xHc40	60600	1	4,52	Hc34xHc25	401048	4,64
Hc6xHc42	702357	3,49	Hc12xHc40	401048	0,82	Hc14xHc34	70011	9	1,68	Hc40xHc34	40104	8	5,88	Hc42xHc40	50138	3	4,93	Hc34xHc25	602696	4,73
Hc6xHc14	500182	3,85	Hc12xHc40	401169	4,68	Hc14xHc17	40013	1	7,30	Hc40xHc34	50018	2	3,55	Hc42xHc34	50138	3	4,72	Hc34xHc25	400440	7,18
Hc6xHc14	700119	4,79	Hc12xHc40	501785	0,17	Hc14xHc17	50234	8	8,54	Hc40xHc34	60095	9	5,76	Hc42xHc34	40044	0	7,76			
Hc6xHc40	400131	10,62	Hc12xHc40	602696	3,80	Hc14xHc17	70011	9	3,67	Hc40xHc33	50178	5	3,51	Hc42xHc34	40104	8	11,23	Hc33xHc25	606001	8,26
Hc6xHc40	400440	6,07	Hc12xHc40	700119	0,78	Hc14xHc25	40013	1	8,26	Hc40xHc17	40013	1	0,78	Hc42xHc34	1	17,32 *				
Hc6xHc40	500182	2,05	Hc12xHc40	702357	7,22	Hc14xHc25	50234	8	6,59	Hc40xHc17	40044	10,7	1	Hc42xHc33	60600	1	12,69*	Hc17xHc25	400131	2,94
Hc6xHc40	700119	3,75	Hc12xHc34	700119	1,65	Hc14xHc25	70011	15,76	*	Hc40xHc17	40104	8	2,97	Hc42xHc17	50138	3	3,96	Hc17xHc25	501383	3,31
Hc6xHc40	702357	8,37	Hc12xHc34	401048	5,38					Hc40xHc17	40116	9	3,68	Hc42xHc17	40044	0	4,82	Hc17xHc25	602696	4,81
Hc6xHc34	400440	3,88	Hc12xHc34	401169	0,81					Hc40xHc17	50018	2	0,16	Hc42xHc17	40104	8	5,96	Hc17xHc25	400440	8,95
Hc6xHc34	700119	1,11	Hc12xHc34	702357	3,96					Hc40xHc17	50138	3	2,60	Hc42xHc17	40013	1	9,66	Hc17xHc25	700119	15,22*
Hc6xHc34	500182	6,31	Hc12xHc34	602696	0,91					Hc40xHc17	60269	6	4,11	Hc42xHc25	60600	1	3,29			
Hc6xHc17	400440	0,45	Hc12xHc33	501785	2,67					Hc40xHc17	70011	9	2,37	Hc42xHc25	40104	8	6,49			
Hc6xHc17	500182	1,21	Hc12xHc17	401048	1,41					Hc40xHc25	40013	1	1,94	Hc42xHc25	70011	9	7,47			
Hc6xHc17	400131	9,48	Hc12xHc17	401169	0,51					Hc40xHc25	40044	10,6	4		Hc42xHc25	40013	1	9,68		
Hc6xHc17	700119	3,76	Hc12xHc17	501785	0,52					Hc40xHc25	40104	8	0,40							
Hc6xHc17	702357	3,06	Hc12xHc17	602696	2,61					Hc40xHc25	50138	8	1,73							

Hc6xHc25	400131	10,64	Hc12xHc17	700119	3,32	Hc40xHc25	60095 ³	9	1,30
Hc6xHc25	700119	15,26*	Hc12xHc17	702357	3,33	Hc40xHc25	60269	6	5,06
			Hc12xHc25	401048	12,89*	Hc40xHc25	70011	9	4,72
			Hc12xHc25	502348	0,67				
			Hc12xHc25	602696	5,15				
			Hc12xHc25	702357	3,49				

4.4. Diversidade genética na amostra total

Na amostra total de 361 plantas (adultos, não reprodutivos e progênies) foram detectados 156 alelos, variando entre locos de seis a 27 alelos, como média de 17,33 alelos por locos (Tabela 5). O número médio efetivo de alelos por locos (A_e) foi muito menor do que o número médio de alelos por locos (k), variando de 1,19 a 13,70, com média de 4,55, o que indica que embora os locos tenham um grande número de alelos segregando, a grande maioria destes tem baixa frequência. A heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,104 a 0,910, com média de 0,551 e foi sempre inferior a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e), que variou de 0,160 a 0,927, com média de 0,633. Como a H_o foi sempre inferior a H_e , todos os valores do índice de fixação (F) foram positivos, variando de 0,011 a 0,368, com média de 0,116. Após a correção de Bonferroni, os valores do índice F foram significativos em seis dos nove locos e para a média dos locos, sugerindo endogamia na população.

Tabela 5. Índices de diversidade genética e índice de fixação para árvores adultas, não reprodutivos e progênies de *Hymenaea courbaril* L. k é o número total de alelos; A_e é o número efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; F é o índice de fixação.

Loco	n	k	A_e	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{F}$
HC6	341	18	2,80	0,466	0,643	0,256*
HC12	329	6	2,04	0,429	0,510	0,111*
HC42	278	20	4,85	0,741	0,794	0,065*
HC14	303	11	1,39	0,248	0,280	0,084
HC40	322	21	13,70	0,910	0,927	0,018
HC34	276	21	4,76	0,775	0,790	0,011
HC33	337	7	1,19	0,104	0,160	0,368*
HC17	336	27	4,12	0,690	0,757	0,073*
HC25	294	25	6,13	0,595	0,837	0,274*
Média	--	17,33	4,55	0,551	0,633	0,116*
Total	361	156	--	--	--	--

* significativos a 5% de probabilidade após a correção de Bonferroni (0,0056).

4.5. Diversidade genética e índice de fixação entre gerações

Um maior número de alelos foi observado na amostra de não reprodutivos (122 alelos), seguido da amostra dos adultos (103) e das progênies (84), embora o tamanho amostral das progênies foi aproximadamente cinco vezes maior do que a dos adultos e a dos não reprodutivos (Tabela 6). Destes alelos, 29 alelos eram exclusivos aos não reprodutivos, nove as árvores adultas e 14 as progênies. Isto indica que, os não reprodutivos representam um rico reservatório de diversidade genética que poderá vir a ser incorporada nas novas gerações da presente população, quando estes se tornarem reprodutivos. Indica também que ocorreu deriva genética na população durante os eventos de recombinação (cruzamentos) e nem todos os alelos presentes nos adultos foram passados para as gerações descendentes (progênies e não reprodutivos). Indica ainda, que ocorreu a imigração de pólen (fluxo gênico) na parcela, trazendo alelos de árvores localizadas fora desta.

O número médio de alelos por loco apresentou o mesmo padrão que o número total de alelos por loco, sendo de 13,56 nos não reprodutivos, 11,44 nos adultos e 9,33 nas progênies. Comparando adultos e progênies, este resultado sugere que nem todas as árvores adultas participaram do evento reprodutivo que deu origem as sementes e passaram seus genes para a população descendentes, como observado na Tabela 6. De fato, avaliando o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, é possível concluir que o número médio de alelos por locos foi significativamente diferente entre todas as amostras (adultos, não reprodutivos e progênies).

O número efetivo de alelos por locos (A_e) foi muito menor do que o número médio de alelos por locos em todos os locos e amostras, indicando que muito dos alelos tem baixa frequência nas diferentes gerações. A média entre locos para A_e diferiu significativamente entre adultos e progênies e entre não reprodutivos e progênies, sendo que as progênies tinham o menor valor.

A heterozigosidade observada (H_o) e a esperada (H_e) foram maiores nos adultos e significativamente diferente entre adultos e progênies. Isto indica que ocorreram alterações nas frequências genotípicas entre estas duas gerações, no sentido de aumento da homozigose nas progênies, provavelmente devido à autofecundações e/ou cruzamentos entre parentes.

Comparando a diversidade genética das progênies antes da exploração (Tabela 6) com após a exploração, constata-se que a o corte seletivo de árvores reduziu substancialmente esta. O número total de alelos foi deduzido de 159 para 84 alelos, o que representa uma redução em 47%. Ainda, de acordo com o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, o número

médio de alelos por locos e a heterozigosidade esperada foram significativamente diferente entre as progênes antes e após a exploração.

O índice de fixação foi positivo e significativamente diferente de zero em todas as amostras ($\hat{F}_{ad}=0,111$, $\hat{F}_{juv}=0,160$ e $\hat{F}_{prog}=0,045$), sugerindo endogamia, efeito Wahlund ou devido à presença de alelos nulos nos locos (Bittencourt; Sebbenn, 2007). Os valores positivos do índice de fixação nos adultos e não reprodutivos foram próximos aos observados por Lacerda et al. (2008a) para a mesma população antes da exploração, mas considerando indivíduos com DAP<50 cm como sub-adultos ($n=59$; $\hat{F}_{juv}=0,181$) e ≥ 50 cm de DAP como adultos ($n=76$; $\hat{F}=0,149$). Embora as classes adotadas aqui e as adotadas por Lacerda et al. (2008a) foram muito próximas, o número de indivíduos era muito diferente, pois no presente estudo, está se avaliando apenas as árvores remanescentes após a exploração. Lacerda et al. (2008a) estudou a estrutura genética espacial (SGS) destas amostras de sub-adultos e adultos e observou forte estrutura genética espacial intrapopulacional. Em decorrência desta estruturação genética, os autores interpretaram os altos valores do índice de fixação como um resultado principalmente do efeito Wahlund. Uma forte SGS pode resultar em índices de fixação positivos como uma consequência da estruturação da população em famílias. A mesma explicação pode se aplicar no presente caso, visto que não foram detectados alelos nas progênes.

Em relação ao positivo índice de fixação observado nas progênes, esse possivelmente se deve a ocorrência de cruzamentos entre parentes e/ou autofecundação. Lacerda et al. (2008b) estudando progênes de polinização aberta amostradas antes da exploração também observou índice de fixação positivo e significativamente diferente de zero ($\hat{F}_{prog}=0,074$, $P<0,05$), o que também sugeriu endogamia. No caso, como os autores não detectaram autofecundações, mas forte estrutura genética espacial na geração adulta, eles atribuíram à endogamia a ocorrência de cruzamento entre parentes. Como a população ainda apresenta SGS (LACERDA et al., 2008a) e como será demonstrado posteriormente, na análise do sistema de reprodução, que ocorreram cruzamentos entre parentes, a endogamia observada das progênes pode ser explicada por este fenômeno.

Tabela 6. Índices de diversidade genética e índice de fixação para árvores adultas, não reprodutivos e progênes antes e após a exploração de *Hymenaea courbaril* L. k é o número total de alelos; A_e é o número

efetivo de alelos nos locos; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; $\hat{F}_{ad}$, $\hat{F}_{juv}$ e $\hat{F}_{prog}$ são os índices de fixação para os adultos, não reprodutivos e progênes, respectivamente; $P_{2^\circ Parente}$ é a probabilidade de excluir o segundo parente (quando um dos parentes é conhecido). (F Fonte: LACERDA et al., 2008b)

Loco	Adultos (n=55)						Não reprodutivos (n=56)				
	k	A_e	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{F}_{ad}$	$\hat{P}_{Exc2}$	k	A_e	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{F}_{juv}$
HC6	9	4,78	0,634	0,791	0,198	0,619	15	3,86	0,539	0,741	0,272*
HC12	3	1,84	0,415	0,457	0,092	0,311	4	1,92	0,395	0,478	0,173
HC42	17	5,99	0,755	0,833	0,094	0,686	19	10,87	0,818	0,908	0,099
HC14	8	1,36	0,289	0,266	-0,085	0,301	10	1,97	0,277	0,492	0,438*
HC40	20	13,70	0,963	0,927	-0,039	0,837	15	8,93	0,873	0,888	0,017
HC34	9	4,13	0,744	0,758	0,018	0,582	12	2,87	0,818	0,652	-0,255
HC33	2	1,39	0,111	0,282	0,606*	0,154	7	1,44	0,208	0,307	0,323
HC17	18	4,59	0,673	0,782	0,140	0,770	22	5,92	0,660	0,831	0,206*
HC25	17	10,00	0,744	0,900	0,173	0,813	18	7,25	0,584	0,862	0,323 *
Média	11,44	5,31	0,592	0,666	0,111*	-	13,56	5,00	0,575	0,684	0,160 *
IC _{95%-Inf}	10,89	4,97	0,570	0,645	0,117	-	13,08	4,72	0,555	0,667	0,161
IC _{95%-Sup}	11,99	5,65	0,614	0,687	0,149	-	14,03	5,28	0,594	0,702	0,194
Total	103	-	-	-	-	0,99986	122	-	-	-	-

Loco	Progênes antes da exploração (n=367) £						Progênes após a exploração (n=250)				
	k	A_e	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{F}_{prog}$		k	A_e	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{F}_{prog}$
HC6	10	2,77	0,682	0,639	-0,068	-	7	1,82	0,414	0,452	0,083
HC12	7	1,74	0,449	0,424	-0,058	-	4	1,72	0,437	0,417	-0,049
HC42	24	4,48	0,806	0,777	-0,037	-	11	3,92	0,720	0,745	0,034
HC14	10	2,31	0,192	0,567	0,662*	-	2	1,31	0,236	0,237	0,004
HC40	23	10,64	0,936	0,906	-0,033	-	17	11,76	0,905	0,915	0,011
HC34	17	2,92	0,890	0,658	-0,353*	-	11	3,27	0,772	0,694	-0,113
HC33	6	1,28	0,026	0,216	0,878*	-	2	1,10	0,078	0,091	0,143
HC17	33	5,99	0,731	0,833	0,123	-	11	3,69	0,701	0,729	0,039
HC25	29	5,99	0,766	0,833	0,080	-	19	4,46	0,564	0,776	0,273*
Média	17,67	4,23	0,609	0,650	0,074	-	9,33	3,67	0,536	0,562	0,045*
IC _{95%-Inf}	15,22	3,51	0,531	0,596	0,037	-	8,83	3,41	0,514	0,539	0,038
IC _{95%-Sup}	20,12	4,96	0,687	0,705	0,228	-	9,84	3,94	0,558	0,584	0,056
Total	159	-	-	-	-	-	84	-	-	-	-

4.6. Estrutura genética espacial

A análise de autocorrelação espacial detectou estrutura genética significativa para os adultos (Figura 8) na primeira classe de distância (0 a 250m). Isso indica que árvores próximas até a distância de 250m possam ser parentes entre si e nos não reprodutivos não houve estrutura genética significativa.

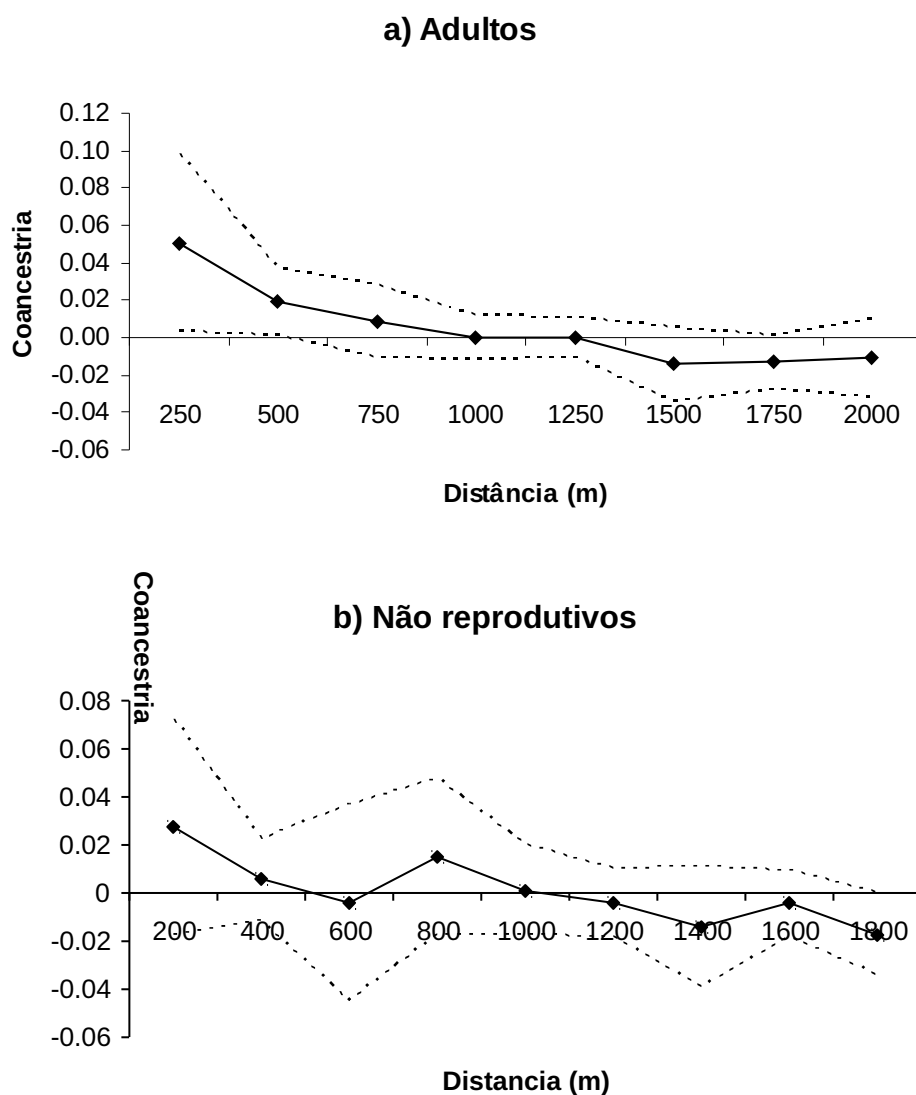


Figura 8. Distribuição espacial de genótipos adultos e não reprodutivos em população natural de *Hymenaea courbaril*. A linha contínua representa o valor médio do coeficiente de coancestria e as duas pontilhadas representam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

4.7. Sistema de cruzamento

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco (t_m) foi significativamente diferente da unidade (1,0) em 12 das 14 progênies avaliadas (Tabela 7), bem como para a média populacional (Tabela 8), indicando que ocorreram algumas autofecundações. Lacerda et al. (2008b), estudando progênies de polinização aberta da mesma população, mas antes do corte seletivo de árvores observaram taxa de cruzamento multiloco não diferente da unidade. Os autores atribuíram este resultado a uma suposta auto-incompatibilidade na espécie. Similar

resultado foi observado por Dunphy et al. (2004), na mesma espécie em populações de Porto Rico. Os resultados aqui observados discordam da hipótese de total auto-incompatibilidade na espécie. Contudo, a auto-incompatibilidade pode ser “latente”, ou seja, sob algumas circunstâncias, podem ocorrer autofecundações, como por exemplo, no caso de árvores reprodutivamente isoladas. Isso tem sido observado em algumas espécies arbóreas tidas como auto-incompatíveis. Por exemplo, em *Paquira quinata*, tem sido observado que árvores que ocorrem em florestas contínuas ou fragmentos florestais produzem sementes somente por cruzamentos, enquanto que árvores isoladas em campos e pastagens produzem sementes tanto por cruzamentos como por autofecundação (FUCHS et al., 2003). Similar resultado é reportado para a espécie arbórea tropical *Dipteryx panamensis* (HANSON et al., 2008). O corte seletivo de árvores reduz a densidade de árvores reprodutivas e isola árvores reprodutivas nas populações e isso, possivelmente pode afetar o comportamento dos polinizadores, aqui no caso morcegos, alterando o sistema de reprodução. Isso pode explicar a ocorrência de algumas autofecundações na presente população. De fato, possivelmente, a taxa de autofecundação seja ainda maior do que a detectada, mas muitas dos óvulos autofecundados podem ter sido abortados ou as sementes tornadas inviáveis, de forma que foram analisadas somente sementes advindas de cruzamentos ou com menos efeitos da depressão por endogamia. Este fenômeno foi observado na espécie arbórea tropical *Platypodium elegans* (HUFFORD; HAMRICK, 2003). Contudo, embora tenham sido detectadas algumas autofecundações, a taxa de cruzamento multilocos foi sempre maior do que 90%, indicando que a reprodução em *H. courbaril* ocorre predominantemente por cruzamentos. Sugiro que há uma necessidade de estudos detalhados sobre a biologia reprodutiva de *Hymenaea courbaril* L., com testes de polinização cruzada manuais, para um melhor embasamento do sistema reprodutivo desta espécie.

A taxa de cruzamento unilocos (t_s , Tabela 7) foi menor do que multilocos em 13 das 14 progênies, bem como para a média da população (Tabela 8) e a diferença entre a taxa de cruzamento multilocos e unilocos ($t_m - t_s$) foi significativamente diferente de zero em 11 das 14 progênies e também para a média da população. Estes resultados sugerem que ocorreram cruzamentos entre parentes, mesmo após o corte seletivo de árvores. A avaliação de progênies de polinização aberta antes da exploração também havia detectado a ocorrência de cruzamentos entre parentes na presente população (LACERDA et al., 2008b). Contudo, esta taxa foi superior ($t_m - t_s = 0,096$) a aqui observada para a média da população ($t_m - t_s = 0,066$), embora ambas não sejam estatisticamente diferentes entre si, de acordo com o intervalo de

confiança a 95% de probabilidade do presente trabalho e do estudo de Lacerda et al. (2008b), que se sobrepõe. O cruzamento entre parentes geralmente decorre da existência de estrutura genética espacial nas populações, advindo da dispersão de sementes próximas as árvores matrizes. Lacerda et al. (2008a) estudaram a estrutura genética espacial intrapopulacional (SGS) antes e após o corte seletivo de árvores e, em ambas as situações observaram a presença de estruturação genética dentro da população. O corte seletivo, por eliminar grande número de árvores reprodutivas da população, tendeu a reduzir esta estruturação, mas, contudo, não eliminou 100% a estrutura genética espacial e ainda permanece certo número de árvores parentes entre si. Isso explica a ocorrência de cruzamento entre parentes.

Tabela 7. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em uma população de *Hymenaea coubaril* L. t_m é a taxa de cruzamento multilocos; t_s é a taxa de cruzamento unilocos; $t_m - t_s$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é correlação multilocos de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de pais polizadores; Θ é a coancestria dentro de progênie; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da progênie; média $\pm$ erro padrão da média 95% de probabilidade.

Matriz	t_m	t_s	$t_m - t_s$	$r_{p(m)}$	N_{ep}	Θ	$N_{e(v)}$
	0,907 $\pm$ 0,05	0,907 $\pm$ 0,02		0,053 $\pm$ 0,30			
400131	7	7	0,000 $\pm$ 0,045	6	18,9	0,172	2,64
	0,992 $\pm$ 0,00	0,916 $\pm$ 0,01		0,097 $\pm$ 0,19			
400440	3	8	0,076 $\pm$ 0,018	7	10,3	0,159	2,83
	0,949 $\pm$ 0,04	0,922 $\pm$ 0,02		0,087 $\pm$ 0,16			
401048	1	0	0,027 $\pm$ 0,029	9	11,5	0,165	2,73
	0,943 $\pm$ 0,04	0,892 $\pm$ 0,02		0,225 $\pm$ 0,11			
401169	5	5	0,051 $\pm$ 0,040	2	4,4	0,184	2,49
	0,978 $\pm$ 0,01	0,912 $\pm$ 0,01		0,068 $\pm$ 0,33			
500182	4	4	0,066 $\pm$ 0,017	0	14,7	0,157	2,85
	0,965 $\pm$ 0,03	0,909 $\pm$ 0,01		0,058 $\pm$ 0,23			
501383	5	9	0,056 $\pm$ 0,036	7	17,2	0,158	2,83
	0,990 $\pm$ 0,00	0,879 $\pm$ 0,02		0,069 $\pm$ 0,27			
501785	2	6	0,111 $\pm$ 0,026	1	14,5	0,157	2,85
	0,937 $\pm$ 0,04	0,889 $\pm$ 0,02		0,214 $\pm$ 0,21			
502348	7	6	0,048 $\pm$ 0,032	7	4,7	0,184	2,49
	0,963 $\pm$ 0,03	0,917 $\pm$ 0,02		0,058 $\pm$ 0,22			
600959	8	2	0,045 $\pm$ 0,038	9	17,2	0,158	2,83
	0,950 $\pm$ 0,04	0,919 $\pm$ 0,01		0,035 $\pm$ 0,35			
602696	0	7	0,031 $\pm$ 0,032	8	28,6	0,158	2,83
	0,950 $\pm$ 0,04	0,880 $\pm$ 0,03		0,119 $\pm$ 0,21			
606001	1	1	0,070 $\pm$ 0,032	0	8,4	0,170	2,67
	0,949 $\pm$ 0,04	0,883 $\pm$ 0,03		0,036 $\pm$ 0,36			
700119	0	2	0,066 $\pm$ 0,027	7	27,8	0,160	2,81
	0,923 $\pm$ 0,05	0,865 $\pm$ 0,04		0,231 $\pm$ 0,26			
700321	6	1	0,058 $\pm$ 0,048	4	4,3	0,189	2,44
	0,983 $\pm$ 0,00	0,884 $\pm$ 0,02		0,203 $\pm$ 0,29			
702357	1	0	0,099 $\pm$ 0,020	0	4,9	0,176	2,59
Total							37,89

Tabela 8. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em uma população de *Hymenaea coubaril* L., após o corte seletivo de árvores.

Parâmetro	Estimativa (IC95%)
<i>Sistema de reprodução</i>	
Índice de fixação nas árvores maternas: F_m	-0,200 (-0,200 a -0,192)
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,962 (0,947 a 0,979)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,896 (0,863 a 0,942)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,066 (0,037 a 0,084)
Correlação de autofecundação: r_s	0,066 (0,036 a 0,066)
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,139 (0,077 a 0,164)
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	7,2 (6,1 a 13,0)
Proporção de irmãos de autofecundação: P_{IA}	0,00 (0,00 a 0,00)
Proporção de irmãos de autofecundação e cruzamento: P_{AC}	0,07 (0,04 a 0,10)
Proporção de meios-irmãos: P_{MI}	0,80 (0,80 a 0,83)
Proporção de irmãos completos: P_{IC}	0,13 (0,07 a 0,16)
Coancestria média dentro de progênie: Θ	0,170 (0,156 a 0,179)
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	2,66 (2,55 a 2,87)
Número de árvores matrizes: m	56 (52 a 59)
<i>Análise Twogener</i>	
Diferenciação no pólen entre matrizes: Φ_{ft}	0,0799
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,1598
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	6,25

Sendo: m é o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter o tamanho efetivo de 150.

A correlação de paternidade ($r_{p(m)}$), ou em outros termos a probabilidade de amostrarem-se duas plantas de cruzamento de uma progênie e ambas serem irmãos completos variou entre progênies de 0,035 a 0,225 (Tabela 7), com média populacional de 0,139 (Tabela 8), indicando que parte das plantas dentro das progênies eram parentes no grau de irmãos-completos. Portanto, as progênies de polinização aberta não eram puramente meios-irmãos, mas sim constituíam misturas de meios-irmãos, irmãos completos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e de cruzamento (Tabela 8). Contudo, a correlação de paternidade para a média da população aqui obtida foi inferior à detectada antes da exploração por Lacerda et al. (2008b), o que sugere que a exploração possa ter favorecido a diversidade de árvores polinizando as árvores matrizes. A estimativa do número efetivo de árvores doadoras

(N_{ep}) de pólen antes da exploração foi de 3,79 (LACERDA et al., 2008b) e de 7,2 após a exploração (Tabela 8), variando entre matrizes de 4,3 a 28,6 (Tabela 7). Estas estimativas são significativamente diferentes entre si, de acordo com o intervalo de confiança do erro da média a 95% de probabilidade. A redução da densidade populacional e da densidade vegetal, por incrementar a abertura do dossel da floresta, pode ter favorecido o maior movimento dos morcegos polinizadores e, conseqüentemente, a participação de um maior número de árvores nos cruzamentos com as matrizes.

O coeficiente médio de coancestria dentro das progênies variou entre progênies de 0,157 a 0,189, com média populacional de 0,170 (Tabelas 7 e 8). O valor médio populacional foi significativamente inferior ao estimado antes da exploração, 0,187 (LACERDA et al., 2008b). Portanto, de acordo com os resultados obtidos, a exploração aparentemente favoreceu a recombinação e reduziu o parentesco dentro das progênies. Contudo, a estimativa do tamanho efetivo dentro de progênies para a média da população $N_{e(v)} = 2,66$, (Tabela 8) foi muito similar a observada antes da exploração $N_{e(v)} = 2,68$, (Lacerda et al., 2008b). Isso indica que para coleta de sementes visando obter lotes com um tamanho efetivo total de 150 é necessário coletar-se sementes de pelo menos 56 árvores matrizes, independente se a floresta for explorada ou não. Ressalta-se, contudo que esta estimativa é baseada na pressuposição de que as árvores matrizes onde será feita a coleta de sementes não são parentes entre si e não receberam um conjunto de pólen sobreposto, ou seja, as matrizes não se cruzaram e não foram polinizadas por árvores que polinizarão outras matrizes onde é feita a coleta de sementes.

Estimou-se ainda a heterogeneidade no conjunto de pólen (Φ_{ft}) recebido pelas árvores matrizes, embora esta estimativa corresponda teoricamente à metade da correlação de paternidade, $\Phi_{ft} = r_{p(m)}/2$ (HARDY et al., 2004). A estimativa obtida aqui ($\Phi_{ft} = 0,0799$, Tabela 8) foi à metade da estimada antes da exploração $\Phi_{ft} = 0,149$, (LACERDA et al., 2008b), e reforça a hipótese de que a exploração florestal, por reduzir a densidade vegetal possa ter favorecido o movimento dos polinizadores e aumentado o número de árvores polinizando as árvores matrizes.

4.8. Distancia e padrões de dispersão de pólen

O poder teórico de exclusão do segundo parente, quando um deles já é conhecido (no presente caso a mãe) foi alto (0,99986), o que indica uma baixa probabilidade de fluxo gênico crítico por pólen ($0,0077 = 1 - 0,99986^{55}$). Isso demonstra que o número de progênies que podem ter sido geradas por um falso pai de dentro da população, quando o verdadeiro pai está fora da

parcela foi baixo, ou em outros termos, que das 250 sementes amostras apenas 1,92 (250 sementes x 0,0077) teoricamente poderiam ter sido erroneamente determinadas como sendo o pai dentro da parcela.

Das 250 progênies amostradas, “um possível parental paterno” foi encontrado dentro da parcela para 155, sugerindo uma taxa de imigração de pólen ($m_{pólen}$) de 38% (Tabela 8). As 95 demais progênies foram aparentemente polinizadas por árvores localizadas fora da parcela. Estas 155 progênies, que os pais foram encontrados dentro da parcela, foram aparentemente geradas por 65% das árvores reprodutivas da parcela (36 de 55 árvores). Dez destas 36 árvores foram responsáveis pela produção de 62% das sementes, e nove destas dez faziam parte das árvores matrizes onde foram coletadas as sementes. De fato, as 14 matrizes foram também as responsáveis pela produção de 69% de todas as sementes. Uma correlação de Spearman foi utilizada para verificar se a fertilidade masculina das árvores ou, em outros termos, se a capacidade de gerar mais descendentes estava associada ao maior DAP. Esta correlação foi positiva, mas não significativa ($R^2=0,11$, $P>0,05$), indicando que o número de filhos gerados por uma árvore paterna não está estatisticamente associada às dimensões de seu DAP.

Comparando a taxa de imigração de pólen detectada antes da exploração (44,7%, LACERDA et al., 2008b) com aqui observada, verifica-se que ocorreu uma pequena redução na entrada de pólen na parcela. Isso, possivelmente se deve ao fato de que as áreas vizinhas à parcela também foram exploradas pelo corte seletivo de árvores, foram coletadas árvores de *Hymenaea courbaril* L. acima de 75 cm de DAP. Assim, exploração reduziu o número de indivíduos reprodutivos e aumentou a distância entre coespecíficos de fora e de dentro da parcela, visto que *H. courbaril* L. inicia a reprodução apenas quando atinge aproximadamente 49 cm de DAP.

Das 155 plantas que tiveram o pai determinado dentro da parcela, 4% foram aparentemente fertilizadas pela mesma planta (Tabela 9), ou seja, foram originadas de autofecundação, sugerindo uma taxa de cruzamento de 0,96. Esta taxa é praticamente idêntica à detectada pelo modelo misto de reprodução ($t_m=0,962$, Tabela 8). Este resultado reforça o resultado de que ocorreram certas autofecundações e indica forte coerências entre a estimativa direta da taxa de cruzamento, utilizando análise categórica de paternidade e o modelo de cruzamentos mistos de Ritland e Jain (1981) e implementado no programa MLTR (RITLAND, 2002).

Considerando as autofecundações, a distância de dispersão de pólen (δ) variou de 0 a 2204 m, com média de 898 m (Tabela 9). Desconsiderando as autofecundações, esta distância

variou de 114 a 2204 m, com média de 952 m (Tabela 9) e mediana de 870 m. Dentro da parcela, aproximadamente 60% do pólen foi disperso até 1000 m. A comparação entre a curva de distribuição de frequências de dispersão realizada de pólen e a curva de frequência da distância entre todas as árvores reprodutivas da população em relação às 14 árvores matrizes que tiveram sementes amostradas, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov ($D=0,163$, $P=0,0036$; Figura 9), indicou que estas são estatisticamente diferentes, sugerindo desvios de cruzamentos aleatórios entre os indivíduos da população e que a distância entre as árvores não explica o padrão de cruzamentos observados.

Os padrões de dispersão de pólen dentro da parcela depois da exploração foram muito similares aos observados por Lacerda et al. (2008b) antes da exploração. Por exemplo, antes da exploração, 62% do pólen foi disperso até 1000 m, e depois da exploração, como visto, 60% foi disperso até 1000 m. Antes da exploração, a distância de dispersão variou de 46 a 1943, com média de 827 m e após variou de 114 a 2204 m, com média de 952 m (Tabela 9). O pequeno aumento na distância de dispersão do pólen se deve provavelmente, a redução da densidade de árvores reprodutivas por hectare, visto que o corte seletivo eliminou 61% dessas árvores (LACERDA et al., 2008a). Contudo, antes da exploração, não foram observadas diferenças significativas entre a curva efetiva de dispersão de pólen e a curva de distâncias entre todas as árvores reprodutivas em relação às árvores matrizes onde foram coletadas sementes, sugerindo que a distância entre as árvores explicava o padrão de reprodução. Aqui, após a exploração, estas duas curvas foram significativamente diferentes entre si e a distância entre as árvores não explicou o padrão de reprodução. Ainda, antes da exploração, Lacerda et al. (2008b) reportaram que 62 árvores da população fertilizaram as árvores matrizes e aqui, observou-se que apenas 36 fertilizaram essas. Obviamente, neste último caso não era esperado observar-se o mesmo padrão, visto que antes da exploração a população possuía 130 árvores reprodutivas dentro dos 546 ha (LACERDA et al., 2008a) e após a exploração permanecem apenas 55 árvores reprodutivas.

A distância média de dispersão de pólen estimada (952 m) pode ser considerada como longa. Este valor, além de ser superior ao previamente observado nesta população antes da exploração 827 m, (LACERDA et al., 2008a) é também superior ao observado em um grupo de árvores isoladas na pastagem de outra espécie do mesmo gênero, *Hymenaea stigonocarpa* e polinizada por morcegos, na qual foi detectada a distância média de dispersão de pólen de 860 m (MORAES; SEBBENN, 2010). Esta distância é também muito superior a determinada na espécie arbórea polinizada também por morcegos e de ocorrência no cerrado do Brasil,

Caryocar brasiliensis onde foi estimada uma distância média de dispersão de aproximadamente 132 m (COLLEVATTI et al., 2010).

4.9. Área de vizinhança efetiva de polinização

A área de vizinhança de polinização (A_{ep}) variou amplamente entre as árvores matrizes (Tabela 9). Desconsiderando as autofecundações, a área efetiva de polinização variou entre 47 e 384 ha, com média de 178 ha. A área média corresponde a aproximadamente 1/3 da área total da parcela, 546 ha, o que indica uma grande área de vizinhança de polinização. Esta área efetiva de vizinhança é esperada conter aproximadamente 18 árvores reprodutivas. Em comparação a área de vizinhança de polinização estimada antes da exploração (variando de 0,12 a 212,8 ha, com média de 115,7 ha, (LACERDA et al., 2008b), verifica-se que a exploração aparentemente promoveu um aumento na área de vizinhança efetiva de polinização, o que pode ser atribuído a redução na densidade de árvores reprodutivas e consequente aumento na distâncias entre elas.

Tabela 9. Estimativa do fluxo de pólen dentro de uma população de *Hynenaea courbaril* L. s é a taxa de autofecundação; N_{ep} é o número efetivo de árvores polinizadoras; r_p é correlação de paternidade; F_m é o coeficiente de endogamia das árvores maternas; Θ é a coancestria dentro de progênies; N_e é o tamanho efetivo da progênie; δ é a distância de dispersão de pólen (média $\pm$ DP, sendo DP o desvio padrão da média); A_{ep} é a área de vizinhança de polinização.

Matriz	n	Fluxo de pólen			s	N _{ep}	r _p	F _m	Θ	N _e	Com autofecundação		Sem autofecundação	
		Dentro	Fora	δ (±DP) (m)							A _{ep} (ha)	δ (±DP) (m)	A _{ep} (ha)	
400131	20	10 (0,50)	10 (0,50)	2 (0,10)	4,56	0,219	0,000	0,201	0,201	2,17	504±368	52	631±288	52
400440	20	10 (0,50)	10 (0,50)	2 (0,10)	12,00	0,083	0,051	0,193	0,193	2,23	497±274	47	497±274	47
401048	20	11 (0,55)	9 (0,45)	1 (0,05)	20,16	0,050	0,000	0,156	0,156	2,67	749±500	132	824±458	132
401169	17	11 (0,65)	6 (0,35)	0 (0,00)	6,35	0,158	0,048	0,152	0,152	2,73	914±646	262	914±646	262
500182	18	11 (0,61)	7 (0,39)	1 (0,06)	24,26	0,041	0,048	0,165	0,165	2,56	1418±744	271	1519±656	271
501383	17	13 (0,76)	4 (0,24)	0 (0,00)	6,58	0,152	0,000	0,144	0,144	2,92	864±521	171	864±521	171
501785	17	13 (0,76)	4 (0,24)	0 (0,00)	15,57	0,064	0,273	0,169	0,169	2,57	790±625	245	790±625	245
502348	16	12 (0,75)	4 (0,25)	1 (0,06)	8,92	0,112	0,000	0,170	0,170	2,53	1106±460	62	1207±315	62
600959	20	14 (0,70)	6 (0,30)	0 (0,00)	10,21	0,098	0,254	0,172	0,172	2,56	968±631	251	968±631	251
602696	20	11 (0,55)	9 (0,45)	1 (0,05)	8,74	0,114	0,164	0,191	0,191	2,28	968±726	296	1065±687	296
606001	20	11 (0,55)	9 (0,45)	2 (0,10)	15,00	0,067	0,403	0,255	0,255	1,80	632±431	69	773±332	69
700119	19	16 (0,84)	3 (0,16)	0 (0,00)	13,69	0,073	0,000	0,134	0,134	3,21	994±515	167	994±515	167
700321	13	7 (0,54)	6 (0,46)	1 (0,08)	13,50	0,074	0,210	0,208	0,208	2,00	932±823	384	1087±782	384
702357	13	5 (0,38)	8 (0,62)	0 (0,00)	5,26	0,190	0,000	0,149	0,149	2,28	758±368	85	758±368	85
Média	--	--	--	--	11,77	0,107	0,104	0,176	0,176	2,47	864±242	178±108	921±254	178±108
Total	250	155 (0,62)	95 (0,38)	11 (0,04)	±5,74	±0,054	±0,103	±0,032	--	±0,37	898±601		952±575	

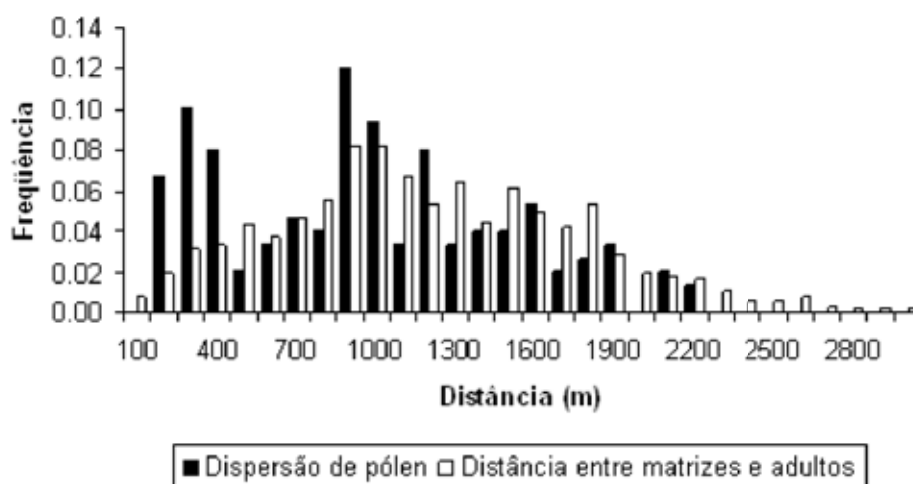


Figura 9. Frequência de distância na dispersão efetiva de pólen e frequência de distância entre as árvores masculinas e as árvores matrizes de *Hymenaea courbaril* L.

4.10. Coancestria e tamanho efetivo da população reprodutiva

O número efetivo de árvores doadoras de pólen (N_{ep}), estimado por análise de paternidade, variou entre as árvores matrizes de 5,26 a 24,26, com média de 11,77 (Tabela 9). Estas estimativas são muito superiores às obtidas a partir da correlação de paternidade, calculada via modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989). Geralmente as estimativas obtidas pelo modelo de cruzamentos correlacionados são inferiores as obtidas pelo método direto, com base em análise de paternidade. Contudo, independente da forma de estimação, os valores estimados de N_{ep} indicam que grande número de árvores polinizaram as matrizes e estes valores foram muito superiores aos previamente estimados na mesma população $N_{ep} = 3,79$ (LACERDA et al., 2008b). Em consequência disso, a correlação de paternidade foi relativamente baixa, variando entre matrizes de 0,041 a 0,219, com média de 0,107, sugerindo que, embora as progênies possuam certo número de pares de irmãos-completos, grande parte das progênies são parentes no grau de meios-irmãos. O coeficiente de coancestria médio dentro das progênies variou de 0,144 a 0,255, com média de 0,176, ou seja, variou de próximo ao esperado em progênies de meios-irmãos a próximo ao esperado em progênies de irmãos completos. O tamanho efetivo de variância foi consequentemente muito menor do que o esperado em progênies de meios-irmãos ($N_e = 4$), variando de 1,80 a 3,21, com média de 2,47. Isto mostra que para a coleta de sementes para fins de melhoramento florestal, conservação genética e reflorestamentos ambientais, será necessário à coleta de

sementes de muitas árvores para obter-se lotes de sementes que contenham um tamanho efetivo adequado para estes fins.

5. CONCLUSÕES

1. Os nove locos microssatélites utilizados neste estudo apresentam segregação Mendeliana codominantes, não estão ligados e não apresentam desequilíbrio de ligação e, portanto, podem ser utilizados para estudos da diversidade e estrutura genética, sistema de reprodução e fluxo gênico contemporâneo na espécie.
2. Os indivíduos não reprodutivos representam um reservatório de diversidade genética que poderá vir a ser incorporada nas novas gerações da presente população, quando estes se tornarem reprodutivos;
3. Existe alta taxa de imigração de pólen na população localizada na parcela (fluxo gênico);
4. O processo de reprodução não foi aleatório e ocorreu deriva genética na formação das progênes;
5. O corte seletivo de árvores reduziu substancialmente a diversidade genética na população remanescente e na descendente da população após a exploração;
6. Existe endogamia na população descendente após a exploração;
7. O corte seletivo de árvores causou autofecundações e a espécie não parece ser auto-incompatível, como havia sido previamente hipotetizado;
8. Ocorreram cruzamentos entre parentes na população;
9. As progênes de polinização aberta após a exploração são compostas por misturas de meios-irmãos, irmãos-completos, irmãos de autofecundação e irmãos de cruzamentos e autofecundações;
10. O corte seletivo de árvores aumentou a distância de dispersão de pólen e, conseqüentemente a área de vizinhança de polinização.

6. REFERÊNCIAS

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

ALMEIDA, S. C. B. Avaliações fenológicas de quatro espécies arbóreas: ingá calantha Ducke (Mimosaceae), *Hymenaea parvifolia* huber, *Hymenaea courbaril* L. e *Copaifera multijuga* Hayne (Caesalpiniaceae). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA- PIBIC, 8., 1999, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: CNPq-UFAC, 1999. p.92.

ASNER, G. P.; BROADBENT, E. N.; OLIVEIRA, P. J. C.; KELLER, M.; KNAPP, D. E.; SILVA, J. N. Condition and fate of logged forests. **PNAS**, Usa, v. 103, n. 34, p.12947-12950, 22 Aug. 2006.

ASNER, G. P.; KNAPP, D. E.; BROADBENT, E. N., OLIVEIRA, P. J. C., KELLER, M., SILVA, J. N. Selective Logging in the Brazilian Amazon. **Science**, Washington, v. 310 , p.480-482, 21 Oct. 2005.

ASQUITH, N. M.; TERBORGH, J.; ARNOLD, E.; RIVEROS, M. The fruits the agouti ate: *Hymenaea courbaril* seed fate when its disperser is absent. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v.15, p.229–235, 1999.

AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P. S. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{ft} , pollen dispersal and inter-female distance. **Genetics**, Austin, v.57, p.851-857, 2001a.

AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P. S. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. III. Impact of adult population structure. **Genetical Research**, London, v.78, p.271-280, 2001b.

AZEVEDO, V.C.R.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; GRATTAPAGLIA, D. 2007. Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A.Chev., a heavily logged Amazonian timber species. **Journal of Heredity**, London, v.98, p.646-654, 2007.

BITTENCOURT, J. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Journal of Heredity**, London, v.99, p.580-591, 2007. doi: 10.1038/sj.hdy.6801019.

BRASIL. 2006, Instrução Normativa n.o- 5, de 11 de dezembro de 2006. **Diário oficial da União**- nº 238, 13 de dezembro de 2006. Seção 1, p.... Disponível em: <[http://www.floresta-vivaamazonas.org.br/download/IN MMA 5 de 111206.pdf](http://www.floresta-vivaamazonas.org.br/download/IN_MMA_5_de_111206.pdf)>. Acesso em: 14. jun. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Serviço Florestal Brasileiro. Plano anual de outorga florestal: PAOF, 2009. Disponível em: < <http://www.florestal.gov.br/>>. Acesso em: 14 jun. 2010.

BUCHERT, G. P.; RAJORA, O. P.; HOOD, J. V. Effects of harvesting on genetic diversity in old-growth eastern white pine in Ontario, Canada. **Conservation Biology**, Boston, v.11, n 3, p.747-758, 1997.

BURCZYK, J.; T. E. KORALEWSKI. 2005. Parentage versus two-generation analysis for estimating pollen-mediated gene flow in plant population. **Molecular Ecology**, Oxford, v.14, n.8 p.2525-2537, 2005.

BURCZYK, J.; W. T.; ADAMS, J. Y.; SHIMIZU, 1996. Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon) stand. **Journal of Heredity**, London, n.3, p.251-260, 1996. doi:10.1038/hdy.1996.139

CARNEIRO, F. S.; SEBBENN, A. M.; KANASHIRO, M.; DEGEN, B. 2007. Low inter-annual variation of mating system and gene flow of *Symphonia globulifera* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, Washington, v.39, n.9, p.628-636, 2007.

CARNEIRO, F. S.; DEGEN, B.; KANASHIRO, M.; LACERDA, A. E. B.; SEBBENN, A. M. 2009. High levels of pollen dispersal detected through paternity analysis from a continuous *Symphonia globulifera* population in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.258, n.7, p.1260-1266, 2009.

CARVALHO, J.O.P. **Structure and dynamics of a logged over Brazilian Amazonian rain forest.** 1992. 215f. Thesis (D.Phil.)-University of Oxford. Oxford, 1992.

CARVALHO, J. O. P.; SILVA, J. N. M.; LOPES, J. C. A. Growth rate of a terra firme rain forest in Brazilian. **Acta Amazonica**, Manaus, v.2, n.34, p.209-217, 2009.

CONSELHO BRASILEIRO DE MANEJO FLORESTAL- CBMF. **Padrões de certificação do FSC – forest stewardship council, para manejo florestal em terra firme na Amazônia brasileira.** [S.l.: s.n.], 2000. 24p. Disponível em: <<http://www.gtz.de/de/dokumente/pt-st2e-brasil-terra-firme-amazon.pdf>>. Acesso em: 14 junh. 2010.

CIAMPI, A.Y.; AZEVEDO, V.C.R.; GAIOTTO, F.A.; RAMOS, A.C.S. Isolation and characterization of microsatellite loci for *Hymenaea courbaril* and transferability to *Hymenaea stigonocarpa*, two tropical timber species. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, p. 1-4, 2008.

CLAY, J.W. C.; SAMPAIO, P.B.; CLEMENT, C.R. **Biodiversidade amazônica: exemplos e estratégias de utilização.** Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000. 409 p.

CLOUTIER, D.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; SCHOEN, D.J. Impacts of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl., **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, n4, p.797-809, 2007.

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

COHENCA, D. Evolução anual de desmatamentos na floresta nacional do Tapajós de 1997 a 2005. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. p.21-26 Disponível em: <<http://marte.dpi.inpe.br/col/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.12.00.34/doc/6653-6660.pdf>>.

Acesso em: 3 ago. 2010.

COLLEVATTI, R.G.; ESTOLANO, R.; GARCIA, S.F.; HAY, J.D. Short-distance pollen dispersal and high self-pollination in a bat-pollinated neotropical tree. **Tree Genetics; Genomes, Heidelberg-Germany**, v.6, n.4, p.555-564, 2010.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE- CONAMA . Resolução no 406, de 02 de fevereiro de 2009. Disponível em: <[http://www.portal.ufra.edu.br/attachments/1026_de%2006%20de%2002%20de%202009%20\(CONAMA\).pdf](http://www.portal.ufra.edu.br/attachments/1026_de%2006%20de%2002%20de%202009%20(CONAMA).pdf)>. Acesso em: 14 jun. 2010.

CORDEIRO, A. **Floresta nacional do Tapajós**: plano de manejo. Belterra: IBAMA, 2004. 373p. Disponível em: < http://www4.icmbio.gov.br/flona_tapajos/index.php?id_menu=144 >. Acesso em: 14 jun. 2010.

DAYANANDAN, S.; DOLE, J.; BAWA, K.; KESSELI, R. Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v.8, n.10, p.1585-1592, 1999.

DEGEN, B.; BLANC, L.; CARON, H.; et al.. Impact of selective logging on genetic composition and demographic structure of four tropical tree species. **Biological Conservation**, USA, v.131, p.386-401, 2006.

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.

DOW B. D.; ASHLEY, M. V. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. **Journal of Heredity**, London, v.89, p.62-70, 1996.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rosario, v.12, n.1, p.13-15, 1990.

DUNPHY, B. K.; HAMRICK, J. L.; SCHWAGERL, J. 2004. A comparison of direct and indirect measures of gene flow in the bat-pollinated tree *Hymenaea courbaril* in the dry forest life zone of south-western Puerto Rico. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.165, n.3, p.427-436, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Amazônia oriental**: projeto dendrogene, Jatobá, *Hymenaea courbaril*. Belém, 2004. (Projeto Dendrogene. Espécies Arbóreas da Amazônia).

FEARNSIDE, P.M.. Desmatamento na Amazônia brasileira: história, índices e consequências, **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v.1, n.1, p.113-123, Julho 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 222p.

FUCHS, E. J.; LOBO, J. A.; QUESADA, M. 2003. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, Boston, v.17, n.1, p.149-157, 2003.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. 1989. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Journal of Heredity**, London, v.63, p.135-141, 1989. doi: 10.1038/hdy.1989.84

GLAUBITZ, J.C.; MURRELL, J.C.; MORAM, G.F. Effects of native forest regeneration practices on genetic diversity in *Eucalyptus considiana*. **Theoretical and applied genetics**, Germany, v.107, n.3, p.422-431, 2003.

GORCHOV, D. L.; PALMEIRIM, J. M.; JARAMILLO, M.; ASCORRA, C.F. Dispersal of seeds of *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) in a logged rain forest in the Peruvian Amazonian. **Acta Amazonica**, Manaus, v.2, n.34, p.265-273, 2004.

GOUDET, J. Fstat-version 2.9.3.2.: a computer program to calculate F-statistics. **Journal of Heredity**, London, v.86, p.485-486, 1995.

HALLWACHS, W. Agoutis (*Dasyprocta punctata*), the inheritors of guapinol (*Hymenaea courbaril*: Leguminosae). In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H.; DORECHT, W. J. (Ed.). **Frugivores and seed dispersal**. [S.l.; s.n.], 1986. p.285-304.

HANSON, T. R.; BRUNSFELD, S. J.; FINEGAN, B.; WAITS, L. P. Pollen dispersal and genetic structure of the tropical tree *Dipteryx panamensis* in a fragmented Costa Rican landscape. **Molecular Ecology**, Oxford, v.17, p.2060-2073, 2008. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03726.x

HARDY O. J; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.; COLAS, B.; FRÉVILLE, H.; MIGNOT, A.; OLIVIERI, I. Fine-scale genetic structure and gene dispersal in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). II. Correlated paternity within and among sibships. **Genetics**, Pittsburgh, v.168, p.1601-1614, 2004. doi: 10.1534/genetics.104.027714.

HARDY, O.; VEKEMANS, X. **SPAGeDI 1.1. a program for spatial pattern analysis of genetic diversity**: version for windows 95. Belgica : L'Université libre de Bruxelles, 2003. Disponível em: <<http://ebe.ulb.ac.be/ebe/Software.html>>. Acesso em: 14 jun. 2010.

HAWLEY, G.J.; SCHABERG, P.G.; DEHAYES, D.H.; BRISSETTE, J.C. Silviculture alters the genetic structure of an eastern hemlock forest in Maine, USA. **Canadian Journal of Forest Research**, Canadá, v. 35, p.143-150, 2005.

HUFFORD, K. M; HAMRICK, J. L. Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). **Evolution**, Lancaster, v.57, n.3, p.518-526, 2003. doi: 10.1111/j.0014-3820.2003.tb01543.x.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE- IBAMA. **Manejo na floresta nacional do Tapajós para produção sustentada de madeira industrial**: projeto ITTO PD 68/89. [S.l.; s.n.], 2007. Disponível em: <www.ibama.gov.br/projetotapajos/>. Acesso em: 14 jun. 2010.

JAMES, T. S.; VEGE, P.; ALDRICH, J. L. Mating systems of three tropical dry forest tree species. **Biotropica**, Washington, v.30, n.4, p.587-594, 1998.

JANZEN, D. H. Behavior of *Hymenaea courbaril* when its predispersal agent is absent. **Science**, Washington, v.189, p.145-147, 1975.

JENNINGS, S. B.; BROWN, N. D.; BOSHIER, D. H.; WHITMORE, T. C.; LOPES, J.C.A. 2001. Ecology provides a pragmatic solution to the maintenance of genetic diversity in sustainable managed tropical rain forests. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam. v.154, n.1-2, p. 1-10, 2001.

KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, p.1099-1106, 2007.

KANASHIRO, M.; THOMPSON, I.S.; YARED, J.A.G.; LOVELESS, M.D.; COVENTRY, P.; MARTINS-DA-SILVA, R.C.V.; DEGEN, B.; AMARAL, W.A. Improving conservation values of managed forest: the dendrogene project in the Brazilian Amazon. **Unasylva**, Roma, v.209, p.26-33, 2002.

LACERDA, A. E. B. **Ecological and genetic impacts of reduced-impact logging in the brazilian amazonian forest – the case of *Hymenaea courbaril* L.** 2007. 310f. Thesis (Doctor of Philosophy)- Department of Geography, School of Human and Environmental Sciences , 2007.

LACERDA, E.B.L.; SEBBENN, A.M.; KANASHIRO, M. Effects of selective logging on genetic diversity and spatial genetic structure of a *Hymenaea courbaril* population in the Brazilian Amazon Forest. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.255, p.1034-1043, 2008a.

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, 2008b.

LIENGSIRE, C.; BOYLE, T.J.B.; YEH, F.C. Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. **The Journal of Heredity**, Oxford, v.89, n.3, p. 216-221, 1999.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000. v.3, 352p.

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95,p. 255-273, 2005.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUUK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, Oxford. v. 7, p. 639-655, 1998.

MAUÉS, M. M. ; OLIVEIRA, P. E. A. M. Consequências da fragmentação do habitat na ecologia reprodutiva espécies arbóreas em florestas tropicias, com ênfase na Amazônia. **Oecologia brasiliensis** , Rio De Janeiro, v.14, n.1, p. 238-250, 2010.

MAUÉS, M. M. ; OLIVEIRA, P. E.; KANASHIRO, M. Pollination biology in Jacaranda copaia (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the Floresta Nacional do Tapajós, Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.31, p.517-527, 2008.

MEAGHER T.R.; THOMPSON E. The relationship between single parents and parent pair genetic likelihoods in genealogy reconstruction. **Theoretical Population Biology**, Amsterdam, v.29, n.1, p. 87-106, 1986.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Mapas da flona Tapajós**. [S,l.; s.n], 2010. Disponível em: < http://www4.icmbio.gov.br/flona_tapajos/index.php?id_menu=86>. Acesso em: 14 junh. 2010.

MORAES, M. L. T.; SEBBENN A. M. 2010. Pollen dispersal between isolated trees in the brazilian savannah: a case study of the neotropical tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Washington, v.999, n.999, p.1-8. Disponível em:< <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/123594578/PDFSTART>> . Acesso: 14 jun. 2010.

MURAWSKI, D. A.; GUNATILLEKE, I. A. U. N.; BAWAS, K. S. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka.

Conservation Biology, Boston, v.8, n.4, p.997-1002, 1994.

NASON, J. D.; Hamrickm J. L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. **The Journal of Heredity**, Oxford, v.88, n.4, p.264-276, 1997.

NEPSTAD, D. C.; A. VERÍSSIMO, A.; ALENCAR, C. A.; NOBRE, E.; LIMA, P. A.; LEFEBVRE, P.; SCHLESINGER, C.; POTTER, P. R. D. S.; MOUTINHO, E.; MENDOZA, M. A.; COCHRANE, V. Large-scale impoverishment of Amazonian forests by logging and fire. **Nature**, London, v.398, p.505–508, 1999.

NEPSTAD, D. C. et al. 2002. The effects of rainfall exclusion on canopy processes and biogeochemistry of an Amazon forest. **Journal of Geophysical Research**, EUA, v.107, p.1–18, 2002. doi:10.1029/2001JD000360.

NIELSEN, R.; TARPY, D. R.; REEVE, H. K. Estimating effective paternity number in social insects and the effective number of alleles in a population. **Molecular Ecology**, Oxford. v.12, p. 3157-3164, 2003.

OBAYASHI, K., KALASA, J., ARMESTO, J. J., COLLINS, S.L. 2002. The ecological concept of disturbance and its expression at various hierarquical levels. **International Journal of Plant Sciences**, Oxford, v.163, p.151-158, 2002.

.

OEDEKOVEN, K. H. Projeto de desenvolvimento e pesquisa florestal. **Revista Floresta**, Curitiba, v.8, p.53-55, 1971.

ORWA C.; MUTUA A.; KINDT R.; JAMNADASS, R; SIMONS, A. 2009. **Agroforestree database**: a tree reference and selection guide version 4.0. Nairobi: World Agroforestry Centre ICRAF, 2009. 1CD-ROM.

PUTZ, F. E.; REDFORD, K.H.; ROBINSON, J.G.; FIMBEL, R.; BLATE, G.M. **Biodiversity conservation in the context of tropical forest management**. [S. l.]: Environment Department Papers, 2000, 92p. (Biodiversity Series,75).

RAJORA, O.P.; RAHMAN, M.H.; BUCHERT, G.P.; DANCİK, B.P. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobes*) in Ontario, Canada. **Molecular Ecology**, Oxford, v.9, p.339-348, 2000.

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

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v.43, p.848-859, 1989.

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

ROBLEDO-ARNUCIO, J. J.; SMOUSE, P. E.; GIL, L.; ALÍA, R. Pollen movement under alternative silvicultural practices in native populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in central Spain. For. Ecol. Manage **Forest Ecology and Management**, Amsterdam. v.197, p. 245-255, 2004.

ROBLEDO-ARNUNCIO J. J; AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P. E. POLDISP: a software package for indirect estimation of contemporary pollen dispersal. **Molecular Ecology Notes**, Loughborough, v.7, p.763-766, 2007.

SEBBENN, A. M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, p.109-124, 2003.

SEBBENN, A. M. 2006. Sistema de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: SILVA, L. D.; HIGA, A. R. **Pomar de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p.93-138.

SEBBENN, A. M.; DEGEN, B.; AZEVEDO, V. C. R.; SILVA, M.; LACERDA, A. B.; CIAMPI, A. Y.; KANASHIRO, M.; CARNEIRO, F. S.; TOMPSON, I.; LOVELESS, M. D. 2008. Modelling the long-term impact of selective logging on genetic diversity and

demographic structure of four tropical tree species in the Amazon forest. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.254, p.335-349, 2008.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P.Y.; LACERDA, C. M. B. Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.13, p. 93-113, 2001.

SHANLEY, P. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: CIFOR, 2005. 304 p.

SILVA, M. B; [KANASHIRO, M.](#); [CIAMPI, A. Y.](#); THOMPSON, 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.

SIST, P.; BROWN, N. 2004. Silvicultural intensification for tropical forest conservation : a response to fredericksen and putz. [Biodiversity and Conservation](#), Netherlands, v.13, n.12, p.2381–2385.

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

SOKAL, R .R.; ROHLF, F. J. **Biometry**: principles and practices of statistics in biological research. 3.ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1995. 887p.

SORK, V. L.; SMOUSE, P. E.; APSIT, V. J.; DYER, R. J.; WESTFALL, R. D. A Two-generation analysis of pollen pool genetic structure in flowering dogwood, *Cornus florida* (Cornaceae), in the missouri ozarks. **American Journal of Botany**, Columbus, v.92, n.2, p. 261-271, 2005.

VAN DER PIJL, L. **Principles of dispersal in higher plants**. 3.ed. New York: Springer Verlag, 1982. 214 p.

VAN GARDINGEN, P. R.; VALLE, D.; THOMPSON, I. 2006. Evaluation of yield regulation options for primary forest in Tapajós National Forest, Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.231, p.184-194, 2006.

VINSON, C. C.; AZEVEDO, V. C. R.; SAMPAIO, I.; CIAMPI, A. Y. Development of microsatellite markers for *Carapa guianensis* (Aublet), a tree species from the Amazon forest. **Molecular Ecology Notes**, Inglaterra, v.5, p.33-34, 2005a.

VINSON, C. C.; AMARAL, A. C.; SAMPAIO, I.; CIAMPI, A. Y. Characterization and isolation of DNA microsatellite primers for the tropical tree, *Symphonia globulifera* Linn. **Molecular Ecology Notes**, Inglaterra, v.5, p.202-204, 2005b.

VINSON, C. C. **Impact of selective logging on inbreeding and gene flow in two amazonian timber species with contrasting ecological and reproductive characteristics**. 2009. 172f. Thesis (Doctor of Philosophy)- Mathematical Physics and Life Sciences Division, University of Oxford, Oxford, 2009.

WHITE, G.M., BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy of Sciences- PNAS**, EUA, v. 99, n.4, p.2038-2042, 2002.

WORKSHOP DE IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO DENDROGENE. **Relatório...** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. Disponível em: <http://www.amazonia.org.br/guia/detalhes.cfm?id=13345&tipo=6&cat_id=41&subcat_id=169>. Acesso em: 14 jun. 2010.