

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**CECÍLIA LUZIA DOURADO**

**MELHORAMENTO EM PROGÊNIES DE SERINGUEIRA [*Hevea brasiliensis* (Willd.  
Ex Adr. de Juss.) Muell.- Arg.] POR CARACTERES QUANTITATIVOS E  
MARCADORES MOLECULARES DO TIPO SSR EM DUAS POPULAÇÕES DE  
DIFERENTES PROCEDÊNCIA**

Ilha Solteira

2016

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CECÍLIA LUZIA DOURADO**

**MELHORAMENTO EM PROGÊNIES DE SERINGUEIRA [*Hevea brasiliensis* (Willd.  
Ex Adr. de Juss.) Muell.- Arg.] POR CARACTERES QUANTITATIVOS E  
MARCADORES MOLECULARES DO TIPO SSR EM DUAS POPULAÇÕES DE  
DIFERENTES PROCEDÊNCIA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de  
Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Doutora.  
Especialidade: Sistema de Produção

Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes  
**Orientador**

Dra. Marcela Aparecida de Moraes  
**Coorientadora**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

D739m Dourado, Cecília Luzia.  
Melhoramento em progênies de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Adr. de Juss.) Muell.- Arg.] por caracteres quantitativos e marcadores moleculares do tipo SSR em duas populações de diferentes procedência / Cecília Luzia Dourado. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2016  
95 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2016

Orientador: Mario Luiz Teixeira de Moraes  
Inclui bibliografia

1. Marcadores SSR. 2. *Hevea brasiliensis*. 3. Índice multiefeitos. 4. Sistema de reprodução. 5. Diversidade genética.

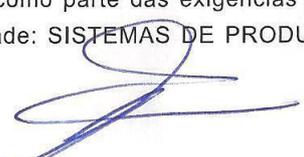
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MELHORAMENTO EM PROGÊNIES DE SERINGUEIRA [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell.- Arg.] POR CARACTERES QUANTITATIVOS E MARCADORES MOLECULARES DO TIPO SSR EM DUAS POPULAÇÕES DE DIFERENTES PROCEDÊNCIA

AUTORA: CECILIA LUZIA DOURADO

ORIENTADOR: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA, especialidade: SISTEMAS DE PRODUÇÃO pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES

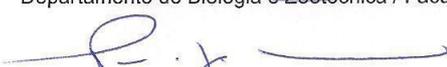
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

  
Prof. Dr. ENES FURLANI JUNIOR

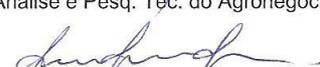
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

  
Prof. Dr. JOAO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

  
Prof. Dr. PAULO DE SOUZA GONÇALVES

Centro de Análise e Pesq. Tec. do Agronegócio do Café / Instituto Agronômico de Campinas

  
Prof. Dr. CELSO LUIS MARINO

Departamento de Genética / Instituto de Biociências de Botucatu

Ilha Solteira, 10 de novembro de 2016

*Aos meus amados pais Hilda e Rivaír (in memoriam)  
pelo amor que recebi e exemplo de vida que tive.*

**DEDICO**

*Aos meus irmãos Robson, Hércules e André.  
Aos amados sobrinhos pela convivência feliz e exemplo familiar. Em  
especial à Safira por deixar os meus dias mais felizes.  
Ao meu marido Juliano pelo apoio de sempre.*

**OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, que permite tudo e permitiu a conclusão desse trabalho e colocou as melhores pessoas que puderam me auxiliar nessa jornada, as quais serei eternamente grata;

A minha família e entes queridos: avós, pais, irmãos, sobrinhos, marido, tios, primos e cunhadas (o), por participarem de minha vida, no passado, presente e futuro;

Ao meu orientador prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, pela orientação, amizade e confiança depositada;

À Dra. Marcela A. Moraes, pela coorientação, amizade e apoio imprescindível nos momentos finais com as análises moleculares;

Aos membros do exame de defesa, Dr. Paulo de Souza Gonçalves, Prof. Dr. João Antônio da Costa Andrade, Prof. Dr. Celso Luis Marino e ao Prof. Dr. Enes Furlani Junior pelas correções, aprendizados primorosos e irriquecedores;

Aos membros do exame de qualificação, Dr. José E. Scaloppi Junior e a Dra. Daniela S.O. Canuto pelas críticas pertinentes, possibilitando melhorias para tese final;

Ao pesquisador Dr. Alexandre M. Sebbenn, pelo ensino e revisões das análises moleculares;

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP- FEPE, especialmente ao Alonso A. da Silva e José Cambuim, pelo auxílio nas coletas de dados de campo, apoio e amizade de sempre;

Ao programa de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS-UNESP pela bolsa CAPES no início do projeto;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP pela bolsa de estudos concedida. Processo (2013/03074-5);

Ao funcionário do STAEPE da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/FEIS-UNESP, José Carlos Melo pelas orientações quanto ao uso do Sage, prestações de contas e relatórios da FAPESP;

Ao Prof. Dr. Enes Furlani Junior pelo apoio e disponibilidade do Laboratório de Fitotecnia;

Aos funcionários da biblioteca, especialmente ao João J. Barbosa pelas correções e auxílio com as normas da tese;

Aos funcionários do programa de pós-graduação por todos os esclarecimentos prestados: Marcia Regina Nagamachi Chaves, Onilda Naves de Oliveira Akasaki, Rafael Sordi da Silva (*in memoriam*), Graciele P. V. Nizo, Ailton dos Reis e Thaís L.da Rocha;

Aos colegas do Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura- LGPS I e II pelos momentos de descontração: Marcela, Janaína, Maiara, Érica, Juliana, Barbarela, Bárbara, Silvelise, Diego, Júnior, Max, Jhenifer, Murilo, Darlin, Diana, Aldo, Celso, Cambuim, Alexandre Silva, Vanessa, Wanderlei, Luís, Marcelo, Fabio, Angélica, Samara, Daniela, Ricardo, Kassia, Daniele, Marília, Danila, Francine, Letícia, Kely, Emannoela e Jéssica. Especialmente Thaísa e Dra. Patrícia pela amizade e auxílio inestimável no laboratório. E a nossa querida técnica Selma Bozzite Moraes, pela amizade e auxílio nas coletas de dados;

Aos colegas do programa de pós-graduação pelos bons momentos que passamos: Max, Belisa, Ana Heloisa, Flaviana, Vanderléia, Thaisa, Marcela, Patrícia, Juliana, Bárbara, Janaína e Maiara;

Ao CNPq pelo apoio na execução do projeto. Processo (562979/2010-7);

Aos meus queridos amigos pela amizade e carinho: Cintia, Liliane, Viviane, Flávia, Michely, Simone Prado, Joyce, Thiago Fregulha, Silvana e a todos que contribuíram direta ou indiretamente na concretização desse trabalho. Eu agradeço sinceramente!

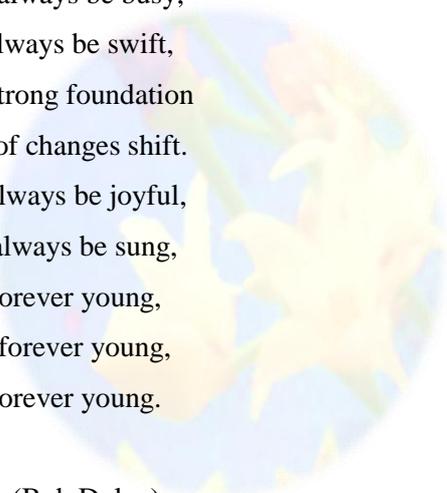
## Forever Young

May God bless and keep you always,  
May your wishes all come true,  
May you always do for others  
And let others do for you.  
May you build a ladder to the stars  
And climb on every rung,  
May you stay forever young,  
Forever young, forever young,  
May you stay forever young.

May you grow up to be righteous,  
May you grow up to be true,  
May you always know the truth  
And see the lights surrounding you.  
May you always be courageous,  
Stand upright and be strong,  
May you stay forever young,  
Forever young, forever young,  
May you stay forever young.

May your hands always be busy,  
May your feet always be swift,  
May you have a strong foundation  
When the winds of changes shift.  
May your heart always be joyful,  
May your song always be sung,  
May you stay forever young,  
Forever young, forever young,  
May you stay forever young.

(Bob Dylan)



## RESUMO

O objetivo principal do trabalho foi o de quantificar a variabilidade genética em progênies de seringueira fundamentando-se na avaliação de caracteres quantitativos e na caracterização molecular do tipo microssatélites (SSR). A primeira população do estudo é originária da floresta primária de Rio Branco- Acre (população selvagem-PS), e a outra, trata-se de uma população, originada de matrizes clonais (população melhorada-PM). Encontram-se instaladas na forma de teste de progênies na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), localizada em Selvíria, MS. Para as duas populações foram avaliados os seguintes caracteres silviculturais de crescimento, altura (ALT), altura comercial (AC), diâmetro médio de copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule (PAP e P50) e produção de borracha seca (PBS), aos oito (PM) e 23 (PS) anos de idade. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, compostos por 31 famílias, quatro repetições e parcelas lineares de 10 plantas, no espaçamento de 3 x 3 m (PM). Para PS o delineamento experimental foi de blocos casualizados com 37 famílias distribuídas em três repetições, de forma desbalanceada com no máximo 10 plantas por progênies no espaçamento de 5 x 3 m (PS). As estimativas dos parâmetros genéticos foram feitas utilizando-se a metodologia de modelo linear misto univariado aditivo REML/BLUP e ganhos na seleção pelo método índice multiefeitos (IME). O DNA genômico foi extraído, quantificado e genotipado para as duas populações de estudo. As análises do sistema de reprodução e diversidade foram baseadas no modelo misto de reprodução e modelo de cruzamentos correlacionados. Foram detectadas diferenças significativas pelo teste da razão de verossimilhança na análise de *deviance* das procedências para os caracteres, diâmetro médio de copa (DMC), perímetro a 50 cm do solo (P50), perímetro a 1,30m do solo (PAP) e produção de borracha seca (PBS), para PM. Para população selvagem foram significativos, os caracteres ALT, DMC, P50 e PAP. Os caracteres que apresentaram maior magnitude para as herdabilidades foram a PBS, para população melhorada e PAP, PBS para a população selvagem, com herdabilidades acima de 60%. As estratégias de seleção de 50%, 40% e 22% dos indivíduos para o caractere PBS e PAP utilizando o índice multiefeitos revelaram de altos e baixos ganhos na seleção as duas populações. Para PM foi mais indicado a estratégia de seleção entre e dentro e para PS a seleção individual. Os ganhos obtidos na seleção foram de 54% para o caráter PBS na população melhorada e de 0,46% para o caráter PAP para população selvagem. A heterozigosidade observada foi de 0,839 a 0,747 para adultos e de 0,425 a 0,399 para as progênies, para as duas populações estudadas. A taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) variou de 0,726 (PM) a 0,798 (PS), indicando que grande parte das sementes foram originadas por cruzamentos, mas houve presença de autofecundação, caracterizado por um sistema de reprodução misto. A endogamia apresentada foi gerada por cruzamentos correlacionados e não por autofecundação. Devido ao tamanho efetivo ( $N_e$ ) menor que 4, resultou na necessidade de coletar-se sementes para fins de conservação genética, recuperação ambiental e melhoramento florestal de pelo menos 94 e 89 árvores, para PM e PS respectivamente.

**Palavras-Chave:** Marcadores SSR. *Hevea brasiliensis*. Índice Multiefeitos. Sistema de reprodução. Diversidade genética

## ABSTRACT

The main objective of this work is to quantify the genetic variability in progenies of rubber tree, based on the quantitative characterization and the molecular characterization of the microsatellite type (SSR). The first population of the study originated in the primary forest of Rio Branco-Acre (wild population-PS), and the other population is a population originated from clonal matrices (improved population-PM). They are installed as progeny tests at the Teaching, Research and Extension Farm, That belongs to Engeneering College of the Julio Mesquita Filho State University of São Paulo, In Selvira, State of South Mato Grosso Brazil. For the two populations, the following silvicultural characteristics of growth, height (ALT), commercial height (AC), average crown diameter (DMC), stem shape (FOR), stem perimeter (PAP and P50) and dry rubber yield (PBS) at eight (PM) and 23 (PS) years old. The experimental design consisted of randomized blocks, composed of 31 families, four replications and linear plots of 10 plants, spaced 3 x 3 m (MP). For PS the experimental design was of causalized blocks with 37 families distributed in three replications, unbalanced with a maximum of 10 plants per progeny in the spacing of 5 x 3 m (PS). Estimates of the genetic parameters were made using the mixed linear univariate model (REML / BLUP) methodology and gains in selection by multi-effects index (MEI). Genomic DNA was extracted, quantified and genotyped for the two study populations. The analyzes of the breeding and diversity system were based on the mixed breeding model and correlated crosses model. Significant differences were detected by the likelihood ratio test in the deviance analysis for the characters, mean crown diameter (DMC), stem perimeter at 50 cm from soil (P50), stem perimeter at 1,30m from soil (PAP) and dry rubber yield (PBS) for PM. For wild populations were significant, the characters ALT, DMC, P50 and PAP. The characters that presented the greatest magnitude for the heritabilities were PBS, for improved population and PAP, PBS for the wild population, with heritabilities above 60%. The selection strategies of 50%, 40% and 22% of individuals for the PBS and PAP using the multi-effects index revealed high and low gains in the selection of the two populations. For PM it was more indicated the strategy of selection between and within and for PS the individual selection. The gains obtained in the selection were 54% for the PBS character in the improved population and 0,46% for the PAP character for the wild population. The observed heterozygosity was 0,839 to 0,747 for adults and 0,425 to 0,399 for the progenies, for the two populations studied. The multilocus crossing rate ( $t_m$ ) varied from 0,726 (MP) to 0,798 (PS), indicating that most of the seeds originated by crosses, but there was a presence of self-fertilization, characterized by a mixed mating system. The presented inbreeding was generated by correlated crosses and not by self-fertilization. Due to the effective size ( $N_e$ ) of less than 4, it resulted in the need to collect seeds for purposes of genetic conservation, environmental recovery and forest improvement of at least 94 and 89 trees, for PM and PS respectively.

**Keywords:** SSR markers. *Hevea brasiliensis*. Muti-Effects Index. Mating system. Genetic diversity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Ciclo utilizado em programas de seleção e melhoramento genético da seringueira.....	21
Figura 2	- Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), Selvíra-MS. A-Teste de progênes PS; B-Teste de progênes PM; C- Sede da fazenda.....	41
Figura A1	- Quantificação do DNA em Gel de agarose (0,8%), para a PM.....	93
Figura A2	- Padrão geral do eletroferograma gerado pelo <i>Fragment Analyzer™ Automated CE System</i> . Nesse esquema vemos o gel virtual (quadro negro da figura) e o eletroferograma propriamente dito com os picos mostrando um indivíduo heterozigoto (190/206), além do <i>low marker</i> (LM) de 35pb e o <i>upper marker</i> (500pb), para o loco IAC-Hv 76.....	94
Figura A3	- Padrão geral do eletroferograma gerado pelo <i>Fragment Analyzer™ Automated CE System</i> . Nesse esquema vemos o gel virtual (quadro negro da figura) e o eletroferograma propriamente dito com os picos mostrando um indivíduo homozigoto (250/250), além do <i>low marker</i> (LM) de 35pb e o <i>upper marker</i> (500pb), para o loco IAC-Hv 07.....	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Herdabilidade individual no sentido restrito ( $\hat{h}_a^2$ ); herdabilidade média de progênie ( $\hat{h}_m^2$ ) e herdabilidade aditiva dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para o caráter perímetro de caule, em <i>H. brasiliensis</i> .....	23
Tabela 2	-	Herdabilidade individual no sentido restrito ( $\hat{h}_a^2$ ); herdabilidade média de progênie ( $\hat{h}_m^2$ ) e herdabilidade aditiva dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para o caráter produção de borracha seca, em <i>H. brasiliensis</i> .....	24
Tabela 3	-	Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres, altura (ALT), diâmetro médio da copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP), produção de borracha seca (PBS), perímetro do caule a 50 cm do solo (P50) e média geral em progênies de seringueira (PM), aos oito anos, em Selvíria, MS.....	52
Tabela 4	-	Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres, altura comercial (AC), altura (ALT), diâmetro médio da copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP), produção de borracha seca (PBS), perímetro do caule a 50 cm do solo (P50) e média geral em progênies de seringueira (PS), aos 23 anos, em Selvíria, MS.....	53
Tabela 5	-	Seleção pelo Índice Multiefeitos (IME), para o caráter produção de borracha seca (g), da população melhorada de <i>H. brasiliensis</i> , avaliado aos oito anos após instalação em Selvíria, MS.....	56
Tabela 6	-	Seleção pelo Índice Multiefeitos (IME), para o caráter perímetro a 1,30m do solo (cm), avaliado aos 23 anos após instalação da população selvagem de <i>Hevea brasiliensis</i> em Selvíria, MS.....	57
Tabela 7	-	<i>Primers</i> microssatélites de <i>Hevea brasiliensis</i> utilizados nas análises. Nome do loco, sequência do <i>primer</i> Forward (F) e Reverse (R), tipo de repetição, temperatura de anelamento (Ta° C), conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), intervalo de tamanho dos produtos encontrados para cada loco e número de acesso no GeneBank.....	71
Tabela 8	-	Diversidade genética, índice de fixação em árvores adultas e progênies de populações de <i>Hevea brasiliensis</i> . $k$ é o número total de alelos; $R$ é o número médio de alelo por loco; $H_o$ é a heterozigosidade observada; $H_e$ é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; $F$ é o índice de fixação.....	76

Tabela 9	- Sistema de reprodução em populações de <i>Hevea brasiliensis</i> (95% IC é o intervalo de confiança a 95%, calculado por 1,000 re-amostragens <i>bootstraps</i> ).....	77
Tabela 10	- Estimativas de sistema de reprodução e estrutura genética para cada família na PM.....	78
Tabela 11	- Estimativas de sistema de reprodução e estrutura genética para cada família na PS.....	79
Tabela A1	- População selvagem (PS) constituída por 37 progênies de polinização aberta localizadas em Selvíria, MS.....	89
Tabela A2	- População melhorada (PM) constituída por 31 progênies de polinização aberta localizadas em Selvíria, MS.....	90
Tabela A3	- Estimativas do Índice Multiefeitos (IME) com base no caráter PBS, para os 233 indivíduos, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, com $k_f$ variável, na PM de <i>H. brasiliensis</i> aos oito anos após instalação, em Selvíria, MS.....	91
Tabela A4	- Estimativas do Índice Multiefeitos (IME) com base no caráter PAP, para os 408 indivíduos, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, com $k_f$ variável, na PS de <i>H. brasiliensis</i> aos 23 anos após instalação, em Selvíria, MS.....	92

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
3.1	SERINGUEIRA: CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	17
3.2	MELHORAMENTO GENÉTICO DA SERINGUEIRA.....	19
<b>3.2.1</b>	<b>Método de seleção pelo Índice Multiefeitos.....</b>	<b>25</b>
3.3	UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES.....	26
<b>3.3.1</b>	<b>Marcadores moleculares microssatélites em seringueira.....</b>	<b>27</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO I: Variação genética e ganhos esperados em duas populações de seringueira em Selvíria, MS.....</b>	<b>36</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>37</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>38</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	39
4.2	OBJETIVOS.....	40
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
<b>4.3.1</b>	<b>Local de estudo.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3.2</b>	<b>As populações de seringueira.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Coleta de dados: Caracteres silviculturais.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Coleta de dados: Exploração de látex.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Análise estatística e estimativa de parâmetros genéticos.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3.6</b>	<b>Seleção pelo método do Índice Multiefeitos (IME).....</b>	<b>45</b>
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
<b>4.4.1</b>	<b>Estimativas de parâmetros genéticos para PM e PS.....</b>	<b>47</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Predição de ganhos na seleção, tamanho efetivo e diversidade genética.....</b>	<b>53</b>
4.5	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59

<b>5</b>	<b>CAPÍTULO II: Diversidade genética e sistema de reprodução em duas populações de seringueira, com diferentes níveis de melhoramento genético.....</b>	<b>63</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>64</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>65</b>
5.1	INTRODUÇÃO.....	66
5.2	OBJETIVOS.....	68
5.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	68
<b>5.3.1</b>	<b>Local de estudo.....</b>	<b>68</b>
<b>5.3.2</b>	<b>As populações de seringueira.....</b>	<b>68</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Amostragem.....</b>	<b>69</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Extração de DNA.....</b>	<b>69</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Genotipagem de DNA.....</b>	<b>70</b>
<b>5.3.6</b>	<b>Análise da diversidade genética e do índice de fixação.....</b>	<b>71</b>
<b>5.3.7</b>	<b>Análise do sistema de reprodução.....</b>	<b>72</b>
5.4	RESULTADOS.....	73
<b>5.4.1</b>	<b>Diversidade genética e índice de fixação.....</b>	<b>73</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Sistema de reprodução.....</b>	<b>74</b>
5.5	DISCUSSÃO.....	80
<b>5.5.1</b>	<b>Importância da diversidade genética para a cultura da seringueira.....</b>	<b>80</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Endogamia.....</b>	<b>81</b>
<b>5.5.6</b>	<b>Sistema de reprodução em relação ao melhoramento <i>versus</i> conservação...</b>	<b>82</b>
5.6	CONCLUSÕES.....	84
	REFERÊNCIAS.....	85
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>89</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A classificação atual do gênero *Hevea* apresenta 11 espécies, dentre as quais, destaca-se a espécie *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg., como a mais importante do ponto de vista comercial, com maior capacidade produtiva e variabilidade genética. É originária do continente americano, precisamente da floresta amazônica do Brasil e é extremamente importante para o país. Além do potencial uso da madeira é uma das maiores fontes produtoras de borracha vegetal e látex do mundo. Considerada matéria-prima estratégica para o progresso da humanidade visto a utilização na fabricação de inúmeros produtos essenciais, assim como faz parte do legado das 50 plantas que mudaram o rumo da história (GONÇALVES et al., 1990; COSTA et al., 2001; SILVA, 2012; LAWS, 2013).

A borracha da seringueira é matéria prima utilizada no transporte, indústria, material bélico e outros, perfazendo cerca de 50 mil produtos diferentes, aplicações como adesivos, pneumáticos, luvas descartáveis, material cirúrgico (tubos intravenosos, seringas, estetoscópios, cateteres e esparadrapos), preservativos, pisos e revestimentos, impermeabilização de fios e tecidos (COSTA et al., 2001; RIPPEL; BRAGANÇA, 2009). Incluídos aos 50 mil produtos diferentes, no qual a borracha natural é matéria prima. Bielen e Poirier (2007) destacam outros produtos na área médica, como: tecidos da epiderme, órgãos (esôfago) e próteses. Outros exemplos, referentes à importância da borracha natural está na fabricação de pneus para caminhões, ônibus e aviões, que não podem ser feitos com borracha sintética devido à drástica diminuição de suas propriedades (RIPPEL; BRAGANÇA, 2009).

Devido suas características físico-químicas, a borracha natural apresenta qualidades que não podem ser obtidas em polímeros produzidos artificialmente (SILVA, 2012). As principais características que a tornam uma excelente matéria prima para vários setores são variados como: resiliência, elasticidade, flexibilidade, resistência à abrasão, ao impacto e à corrosão, fácil adesão a tecidos e ao aço, impermeabilidade, propriedade isolantes de eletricidade, impermeabilidade a líquidos e gases, capacidade de dispersar calor e maleabilidade em baixas temperaturas (SANTOS; MOTHÉ, 2007; RIPPEL; BRAGANÇA, 2009).

Historicamente, o Brasil costumava ser o principal produtor mundial de borracha natural até o início do século XX, mas tornou-se um importador desta matéria-prima na década de 1950. Embora seja o berço das espécies deste gênero, em 2001, apenas 1,11% da produção mundial veio do Brasil. Assim, dois aspectos tornaram-se importantes no cultivo da

seringueira no Brasil: a busca por melhor material genético e a avaliação de novas metodologias (FURLANI et al., 2005).

A heveicultura é um setor importante para o cenário econômico do país principalmente no final dos séculos XIX e início do século XX que passou a ser o principal produtor e exportador mundial. A produção do Estado de São Paulo, atual maior produtor nacional, corresponde a 175.044 toneladas, com participação de 56,5% do total da produção brasileira (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA-IEA (2015). Entretanto, no contexto econômico atual há necessidade de 60% de importação dessa matéria-prima (PINO et al., 2000).

Há cerca de 140 anos, quando teve início sua domesticação, a seringueira foi considerada mais uma espécie selvagem da Amazônia. Durante esse período, o melhoramento genético da seringueira contribuiu de maneira decisiva para o seu desenvolvimento, elevando o nível de produtividade de 400 para algo em torno de 3.000 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Melhoristas em todo o mundo têm tentando formular novas estratégias com o intuito de incrementar cada vez mais a produtividade do seringal, integrando um conjunto de métodos em desenvolvimento (GONÇALVES; AGUIAR; GOUVÊA, 2006; GONÇALVES; MARQUES, 2008b; GONÇALVES; FONTES, 2009).

Programas de melhoramento genético da seringueira têm um papel importante no incremento da produção de borracha, sendo um dos principais objetivos do melhoramento nessa cultura (GOUVÊA, 2009). A crescente procura por novos clones de seringueira tem exigido pesquisas relacionadas com material de banco de germoplasma, capazes de permitir aos melhoristas o desenvolvimento de clones promissores para recomendação (AGUIAR; GONÇALVES, 2006).

O melhoramento genético, embora efetivo, é relativamente lento por se basear em vários ciclos de recombinação, avaliação e seleção, e os problemas como suscetibilidade a pragas e doenças, arquitetura da planta, ou introgressão de genes de interesse, demoram anos para serem resolvidos (SOUZA, 2001).

Apesar do sucesso acumulado dos programas de melhoramento de plantas, ganhos adicionais na eficiência do melhoramento podem ser obtidos por meio de aplicação de tecnologias moleculares, como estudos do polimorfismo do DNA, mostrando-se úteis tanto para auxiliar diretamente o melhoramento de plantas quanto para aumentar o entendimento da domesticação das culturas, da evolução das plantas e o conhecimento dos mecanismos genéticos envolvidos nas características desejáveis (CAIXETA; FERRÃO; MACIEL-ZAMBOLIM, 2013).

## 2 OBJETIVOS

Os objetivos gerais foram o de verificar a variabilidade genética, o sistema de reprodução, o parentesco e o tamanho efetivo em duas populações de seringueira.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Realizar a caracterização genética, molecular e quantitativa
- ❖ Estimar parâmetros genéticos, adotar estratégia de seleção e estimar ganhos na seleção
- ❖ Estimar e comparar parâmetros do sistema de reprodução e de diversidade genética

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 SERINGUEIRA: CARACTERÍSTICAS GERAIS

Pertencente à família Euphorbiaceae, *Hevea brasiliensis* (Willd. ex ADR. de Juss.) Muell.-Arg., também conhecida popularmente por seringueira é a espécie mais importante do ponto de vista comercial entre as 11 espécies existentes do gênero, como maior capacidade produtiva e variabilidade genética. É originária do continente americano, precisamente da floresta amazônica do Brasil e é extremamente importante para o país, em função de ser uma das maiores fontes produtoras de borracha vegetal e látex, bem como potencial uso sua madeira (GONÇALVES et al., 1990; COSTA et al., 2001).

De acordo com Gonçalves e Fontes (2009), as 11 espécies do gênero *Hevea* conhecidas no Brasil são: *H. guianensis* Aublet, *H. benthamiana* Muell.-Arg., *H. brasiliensis* (Will. ex. ADR. de Juss.) Muell.-Arg., *H. pauciflora* (Spruce ex Benth), *H. nitida* Mart. ex Muell.-Arg., *H. microphylla* Pires, *H. spruceana* (Benth), *H. paludosa* Ule Jarb., *H. rigidifolia* (Spruce ex Benth) Muell.-Arg., *H. camporum* Ducke e *H. camargona* Pires. Apenas três produzem látex comercialmente aceitável (*H. guianensis*, *H. benthamiana*, *H. brasiliensis*).

O centro de dispersão das espécies do gênero *Hevea* é a bacia do rio Negro, que curiosamente não tem representantes de *H. brasiliensis*, a não ser numa pequena área do curso inferior, na região do igarapé Jaú. Espécies do gênero *Hevea* ocorrem naturalmente em uma área que inicia na bacia Amazônica e estende-se ao sul, em direção ao Mato Grosso, e ao norte, em direção à parte alta da bacia do Orinoco e uma parte das Guianas, totalizando uma grande superfície que cobre partes do Brasil, Bolívia, Peru, Colômbia, Equador, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname e Guiana (GONÇALVES; ORTOLANI; CARDOSO, 1997; COSTA et al., 2001). Já a distribuição de *H. brasiliensis* ocorre por uma área muito ampla, inferior apenas à de *H. guianensis*, localizada particularmente ao sul do rio Amazonas, ultrapassando à margem esquerda do grande rio apenas em estreita faixa no trapézio colombiano, na foz do rio Negro e na costa amazônica do Amapá (PIRES, 1971).

A seringueira é uma espécie típica de matas úmidas, várzeas e matas ciliares, podendo ocorrer também em matas de terra firme. Seu principal hábito é arbóreo, que pode variar de altura de mediana (entre 7 e 10 m) a muito grande, atingindo 15 a 50 m de altura. O DAP pode variar de 35 cm a 1,88 m de diâmetro (SECCO, 2008).

As folhas são trifolioladas, com pecíolo longo; a base engrossada no pulvino pode exibir até três glândulas na junção dos peciólulos. O folíolo central é um pouco diferente dos laterais, comumente um pouco maior e com base um pouco mais estreita (SECCO, 2008). Ostendorf e Ramaer (1931), mostram que a disposição das folhas é espiralada e elas são distribuídas em fluxos que divergem em um ângulo normalmente de  $138^\circ$  (2/5) ou ocasionalmente de  $103^\circ$  (2/7), parecendo ser uma condição de variabilidade do gênero *Hevea*.

As inflorescências apresentam-se em panículas, ao longo de brotos terminais, ou no ápice de ramos curtos, cobertas por indumento seríceo de tricomas vilososos, curtos, posteriormente glabrescentes na maturação. Os ramos da inflorescência se dispõem em espiral ao longo do eixo principal e têm bases decorrentes, de maneira que a inflorescência se torne angulosa (SECCO, 2008). Em plantios comerciais a primeira floração ocorre entre o 3º e 5º ano após plantio. Porém na mata, leva muito mais tempo, em torno de 25 anos, segundo Siebert (1947) citado por Secco (2008).

As flores são de coloração clara, de tonalidade amarelada, unissexuais (díclinas), monoclamídeas (só apresentam cálice), ausência de corola, monóica (flores masculinas estaminadas e femininas pistiladas ocorrem na mesma inflorescência). As estaminadas são sempre em maior número do que as pistiladas (1:60), ou seja, uma flor feminina para 60 flores masculinas, que ficam na extremidade do eixo principal ou no ápice dos ramos maiores da inflorescência (SECCO, 2008; GONÇALVES; FONTES, 2009). Também foram observados casos de hermafroditismo, em um total de 1.217 flores com morfologia externa feminina encontrou 28,51% que possuíam exclusivamente as estruturas do sistema reprodutor feminino, enquanto 71,49% eram hermafroditas. Em cerca de um terço das flores hermafroditas verificou-se a presença de anteras residuais, com aspecto de funcionais, devido à presença de grãos de pólen (CUCO, 1997). Vários graus de macho-esterilidade também foram observados em diferentes clones, desde a pouca produção até a completa ausência de pólen. Clones macho-estéreis não são diferentes dos clones normais em seus caracteres morfológicos, entretanto as flores masculinas demoram mais tempo para alcançar a maturidade (MAJUMDAR, 1966).

Os principais polinizadores naturais são os mosquitos da família Heleidae, identificados por estudos de Warmke (1951 e 1952). Outro polinizador também citado na literatura é o tripses (SOUZA et al., 2015).

A seringueira é considerada uma espécie com baixa densidade na floresta. No Acre, ocorrem apenas 0,7 a três indivíduos por hectare. Várias espécies podem ocorrer em uma mesma região. No Acre, o tamanho das colocações (área onde os seringueiros coletam o

látex) é medido pela quantidade de seringueiras. Em plantios convencionais de seringueira são utilizadas de 250 a 600 plantas por hectare. No Tapajós, a população local tem uma longa tradição de plantar sementes de seringueira e outras espécies em suas roças, criando agroflorestas com densidades de até 700 seringueiras por hectare (SCHROTH et al., 2003).

O fruto é uma cápsula tricoca (com três mericarpos), lenhosa, algo subglobosa, depressa nos septos, de maneira que, em corte transversal, se apresenta trilobada.

As sementes são subovais a elíptico-oblongas, em número de três, por mericarpo de fruto (SECCO, 2008). A testa dura, brilhante, marrom com numerosos matizes escuros na parte dorsal, ou quase nenhum na parte dorsal, cujo padrão de desenhos pode servir para distinguir variedades e clones da mesma espécie (GONÇALVES; MARQUES, 2008a). São sementes leves, que auxilia no mecanismo de dispersão por meio da água dos rios. As sementes são apreciadas pelos peixes e há referências como uso na alimentação dos índios amazônicos, na forma cozida (SECCO, 2008). Outro uso para semente é na fabricação de tintas e vernizes, devido a coloração amarelo-viscoso, secativo, que provém dos 45% a 50% de óleo presente nas sementes (GONÇALVES; MARQUES, 2008b).

### 3.2 MELHORAMENTO GENÉTICO DA SERINGUEIRA

O marco mais importante da domesticação da seringueira foi a coleta bem sucedida do inglês Henry Alexander Wickman em 1876. Wickman aportou no rio Tapajós e, na região de Boim, com a ajuda dos índios Mura, teria coletado 70.000 sementes de seringueira. Resultou em apenas 22 plântulas destinadas à Malásia (COSTA et al. 2001; GONÇALVES; FONTES, 2009). Desta forma, todo o material clonal desenvolvido na Ásia tem como base progênies de *H. brasiliensis*, introduzida por Wickham (POLHAMUS, 1962).

Segundo Gonçalves et al. (1998), no melhoramento genético de seringueira (*H. brasiliensis*) o caráter primário é a produção de látex, seguida do vigor. Gonçalves e Fontes (2009) sugerem que além do objetivo principal do melhoramento ser a obtenção de clones com alto potencial de produção, há necessidade também da busca de caracteres secundários desejáveis que contribuam para o aumento do potencial de produtividade. Dentre esses caracteres secundários os autores destacam os principais que são: vigor (reduz o período de imaturidade do clone, proporcionando ganho mais rápido ao produtor); crescimento do caule durante o procedimento da sangria (mantém a produção satisfatória e reduz a quebra pelo vento); espessura de casca virgem (diminui a incidência de ferimentos no painel, o que afetaria a produtividade nas próximas sangrias dos painéis C e D); boa regeneração de casca

(permite uma exploração viável por todo o ciclo econômico da planta); resistência às primeiras doenças da região (assegura melhor crescimento e produção, além de minimizar o risco de perdas de plantações com forte incidência de *Microcyclus ulei*, *Coletotrichum gloeosporioides* e *Thanatephorus cucumeris*, bem como doenças do painel); tolerância à quebra pelo vento (assegura bom estande de sangria para toda a vida útil do seringal); e tolerância à seca do painel (proporciona maior produtividade de borracha).

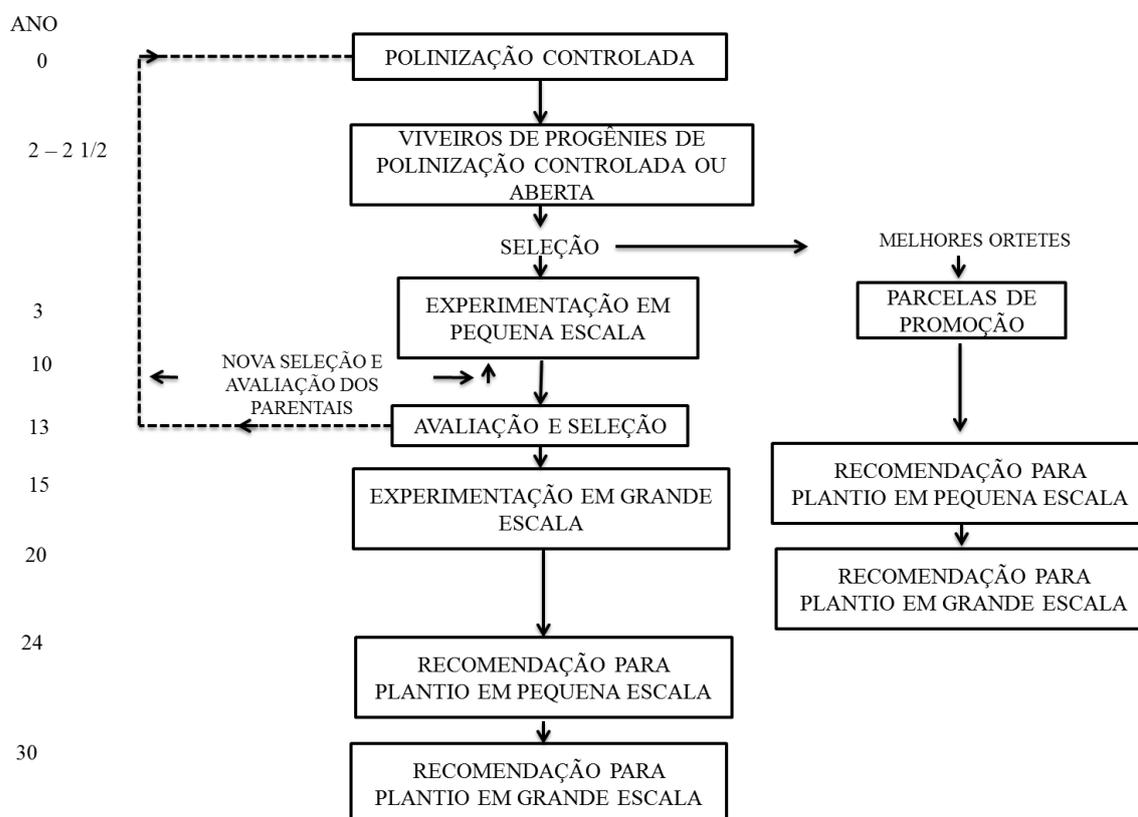
As três etapas de seleção distribuídas entre a polinização até a avaliação de rendimento podem se estender de 20 a 30 anos para a recomendação dos clones para plantio em grande escala (GONÇALVES; CARDOSO; ORTOLANI, 1990; GONÇALVES et al., 2004; GONÇALVES et al., 2009; ARANTES et al., 2010; VERARDI; SCALOPPI JUNIOR; GONÇALVES, 2011).

O ciclo de melhoramento da seringueira ocorre em três etapas. A primeira consiste em avaliações por meio de testes precoces de produção, vigor e tolerância a doenças. Os ortetes são selecionados e clonados para serem testados em experimentos de avaliação de clones em pequena escala. Nessa segunda etapa do ciclo de seleção, após os dois primeiros anos de sangria, os clones promissores são multiplicados e passam a ser avaliados em grande escala, ou ensaios regionais. Na última etapa, são gastos geralmente de 12 a 15 anos, até que se possa recomendar um clone para plantio em grande escala. Portanto, são necessários cerca de 30 anos para completar o ciclo de melhoramento (JAIN; PRIYADARSHAN, 2009).

Gonçalves e Fontes (2009) detalham as três etapas de seleção que compreendem primeiro para obter progênies, que em seguida passam para avaliação em pequena escala, para que finalmente possam ser avaliadas e recomendadas para plantio em grande escala e são denominadas da seguinte forma, respectivamente (GONÇALVES; MARQUES, 2008b): Avaliação de viveiros de progênies (EAPV) - Primeira seleção; Avaliação de clones em pequena escala (EAPE) - Segunda seleção e Avaliação de clones em grande escala (EAGE) – Seleção final.

O ciclo utilizado em programas para seleção e melhoramento em *H. brasiliensis* estão esquematizados na Figura 1 (GONÇALVES; MARQUES, 2008b, GONÇALVES; FONTES, 2009). A avaliação de clones em pequena escala foi proposta por Tan et al. (1981), citado por Gonçalves e Marques (2008b), na qual é obtida pela eliminação da segunda fase de seleção, com seleção cuidadosa de ortetes de alta produção no viveiro de cruzamento, e como clones, são testados diretamente em várias plantações comerciais.

Figura 1- Ciclo utilizado em programas de seleção e melhoramento genético da seringueira



Fonte: (GONÇALVES; FONTES, 2009)

Segundo Gonçalves e Marques (2008b), os principais objetivos do melhoramento da seringueira variam de acordo com a região produtora. No caso do Brasil existem algumas regiões sujeitas ao *Microcyclus ulei*, (com exceção de alguns estados, por exemplo, São Paulo, que representa a região de escape do patógeno). Como os estados da BA, MG, ES, AM que apresentam uma seleção para a produção de látex e também para a resistência ao mal-das-folhas. Já nos países do sudeste asiático e africanos o melhoramento está totalmente direcionado para elevado potencial de produção de látex. Segundo, Marques et al. (2007) outras características são direcionadas para o uso em sistemas agroflorestais (SAFs), pois esses consórcios, também viabilizam o investimento, com a recuperação do capital inicial com a produção das culturas anuais consorciadas. Essas características estão sendo selecionadas para a arquitetura de copa mais fechada e maior densidade foliar, por serem mais desejáveis em consórcios com outras culturas.

Outra característica importante é abertura do painel precocemente e a boa produção, já que a seringueira é uma cultura de grande investimento inicial, a produção em menos tempo é muito importante para rentabilidade futura do investimento. Para isso há necessidade de

clones voltados para melhor crescimento do caule após o início da sangria, já que o fotossintetizado é repartido para crescimento e látex explorados (GONÇALVES; MARQUES, 2008b).

A técnica usual para melhorar esses caracteres tem sido a seleção fenotípica dos paternos, a hibridização e finalmente, a seleção clonal. Recentemente, tem sido utilizada extensivamente a seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos, principalmente em função da facilidade prática de obtenção desse tipo de progênies (GONÇALVES et al., 1998).

A relevância da genética quantitativa para o melhoramento de plantas se baseia no fato de que a manipulação de caracteres quantitativos a partir da endogamia, cruzamentos e/ou seleção constitui um fator essencial para qualquer programa de melhoramento genético que, basicamente, tenha o mesmo objetivo: o de identificar, acumular e perpetuar genes favoráveis. Assim, o entendimento das consequências genéticas dessa manipulação constitui o mais importante papel da pesquisa em genética quantitativa. Nesse sentido, a obtenção de estimativas de parâmetros genéticos é fundamental por permitir identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada. Dentre os parâmetros de maior importância destacam-se as variâncias genéticas aditivas e não-aditivas, as correlações e as herdabilidades (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Para Costa et al. (2010) os testes de progênies têm sido usados na estimação de parâmetros genéticos e seleção de indivíduos, quando se procura avaliar a magnitude e a natureza da variância genética disponível com vistas a quantificar e maximizar os ganhos genéticos, utilizando-se procedimento de seleção adequado.

De acordo com Cruz (2005) a diversidade é medida de duas maneiras. Uma é a variabilidade genética, que expressa as diferenças entre indivíduos de uma mesma espécie ou de espécie diferente que resulta na biodiversidade. A outra é inerente à população, geralmente em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e tratada como variância genotípica. A variância genotípica, além de expressar a diversidade entre indivíduos de uma população, pode ser tratada no contexto biométrico e subdividida em causas de variação (aditiva, dominante e epistática) importantes para o estabelecimento de estratégias de seleção. Geralmente, a variância genotípica pode ser entendida e modelada como resultado de fatores intrínsecos da população, como a sua frequência gênica, e da ação gênica sobre o caráter estudado.

Os dados das Tabelas 1 e 2 são um compilado de valores de herdabilidades, com os caracteres de maior interesse, produção de borracha seca e perímetro do caule.

Tabela 1 - Herdabilidade individual no sentido restrito ( $\hat{h}_a^2$ ); herdabilidade média de progênie ( $\hat{h}_m^2$ ) e herdabilidade aditiva dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para o caráter perímetro de caule, em *H. brasiliensis*

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	FONTE	IDADE (MESES)
$\hat{h}_a^2$	0,3162	Moreti et al. (1994)	36
	0,4743	Boock et al.(1995)	36
	0,2950	Costa (1999)	36
	0,2500	Costa (1999)	36
	0,2720	Costa (1999)	36
	0,3460	Costa et al. (2000)	36
	0,7100	Furlani (2001)	108
	0,43 ± 0,11	Furlani et al. (2005)	108
	0,56 ± 11	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,67±0,09	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,5408	Costa et al. (2008)	36
	0,58±0,19	Arantes et al. (2010)	36
	0,44± 0,09	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,46 ± 0,09	Gouvêa et al. (2013)	36
$\hat{h}_m^2$	0,6730	Moreti et al. (1994)	36
	0,7511	Boock et al.(1995)	36
	0,8690	Costa (1999)	36
	0,8990	Costa (1999)	36
	0,8690	Costa (1999)	36
	0,5900	Furlani (2001)	108
	0,86± 0,13	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,85±0,10	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,9974	Arantes et al. (2010)	36
	0,8728	Costa et al. (2008)	36
	0,8200	Verardi, Scaloppi Junior e Gonçalves (2011)	36
	0,8720	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,9230	Gouvêa et al. (2013)	36
	$\hat{h}_{ad}^2$	0,2500	Moreti et al. (1994)
0,4297		Boock et al.(1995)	36
0,3560		Costa (1999)	36
0,3160		Costa (1999)	36
0,3300		Costa (1999)	36
0,7400		Furlani (2001)	108
0,4634		Arantes et al. (2010)	36
0,3300		Verardi, Scaloppi Junior e Gonçalves (2011)	36

Fonte: Elaboração da própria autora.

Tabela 2 – Herdabilidade individual no sentido restrito ( $\hat{h}_a^2$ ); herdabilidade média de progênie ( $\hat{h}_m^2$ ) e herdabilidade aditiva dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para o caráter produção de borracha seca, em *H. brasiliensis* (Continua)

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	FONTE	IDADE (MESES)
$\hat{h}_a^2$	0,1940	Paiva et al.(1983)	16
	0,8194	Moreti et al. (1994)	36
	0,3502	Boock et al.(1995)	36
	0,1720	Gonçalves et al.(1998)	48
	0,5750	Costa(1999)	36
	0,1940	Costa(1999)	36
	0,0850	Costa(1999)	36
	0,2420	Costa et al. (2000)	36
	0,3800	Furlani (2001)	108
	0,3712	Gonçalves et al. (2004)	24
	0,22 ± 0,11	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,63 ± 0,21	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,31 ± 0,19	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,2610	Costa et al. (2008)	36
	0,76±0,22	Arantes et al. (2010)	36
	0,0890	Costa et al. (2010)	36
	0,20±0,08	Arantes et al. (2013)	36
	0,39±0,12	Arantes et al. (2013)	36
	0,21 + 0,07	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,12 + 0,06	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,59±0,12	Verardi et al. (2014)	-
	0,64 ±0,14	Verardi et al. (2014)	-
	0,40 ±0,11	Verardi et al. (2014)	-
$\hat{h}_m^2$	0,3780	Paiva et al.(1983)	16
	0,8952	Moreti et al. (1994)	36
	0,7332	Boock et al.(1995)	36
	0,5711	Gonçalves et al.(1998)	48
	0,9060	Costa (1999)	36
	0,8030	Costa (1999)	36
	0,5430	Costa (1999)	36
	0,4500	Furlani (2001)	108
	0,6385	Gonçalves et al. (2004)	24
	0,6700	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,8600	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,5000	Gonçalves et al. (2005)	36
	0,7708	Costa et al. (2008)	36
	0,9938	Arantes et al. (2010)	36
	0,6860	Costa et al. (2010)	36
	0,7600	Verardi, Scaloppi Junior e Gonçalves (2011)	36
	0,4657	Arantes et al. (2013)	36
	0,8235	Arantes et al. (2013)	36
	0,8300	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,6380	Gouvêa et al. (2013)	36
	0,8800	Verardi et al. (2014)	-
	0,8900	Verardi et al. (2014)	-
	0,8300	Verardi et al. (2014)	-

Tabela 2 – Herdabilidade individual no sentido restrito ( $\hat{h}_d^2$ ); herdabilidade média de progênie ( $\hat{h}_m^2$ ) e herdabilidade aditiva dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para o caráter produção de borracha seca, em *H. brasiliensis* (Continuação)

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	FONTE	IDADE (MESES)
$\hat{h}_{ad}^2$	0,7836	Moreti et al. (1994)	36
	0,2860	Boock et al.(1995)	36
	0,1506	Gonçalves et al.(1998)	48
	0,6130	Costa(1999)	36
	0,2420	Costa(1999)	36
	0,1060	Costa(1999)	36
	0,3300	Furlani (2001)	108
	0,3332	Gonçalves et al. (2004)	24
	0,6730	Arantes et al. (2010)	36
	0,2300	Verardi, Scaloppi Junior e Gonçalves (2011)	36
	0,5400	Verardi et al. (2014)	-
	0,5900	Verardi et al. (2014)	-
	0,3500	Verardi et al. (2014)	-

Fonte: Elaboração da própria autora

### 3.2.1 Método de seleção pelo Índice Multiefeitos

De acordo com Resende (1995), a adoção de estratégias eficientes de melhoramento florestal, depende do uso de métodos acurados de seleção. Para isso pode-se utilizar o método do Índice Multiefeitos (IME), que explora frações da variância genética aditiva que não são consideradas na seleção entre e dentro de progênies. O método do índice multiefeitos vem sendo empregado ativamente nos estudos de variabilidade genética de espécies florestais, devido aos ganhos expressivos obtidos na seleção (SANTOS et al., 2010; ARANTES et al., 2010; TUNG et al., 2010; SILVA et al., 2011; VERARDI et al., 2013; KUBOTA et al., 2015). Na seleção baseada no Índice Multiefeitos os ganhos são mais elevados por conta da exploração dos efeitos de progênies, de parcela e de indivíduos dentro da parcela (PAIVA; RESENDE; CORDEIRO, 2002).

O método do índice multiefeito é um procedimento ótimo de seleção, equivalendo ao procedimento BLUP (melhor predição linear não-viciada) para o caso em que os dados são balanceados ou a sobrevivência é superior a 85% (RESENDE; FERNANDES, 1999). Entretanto para Resende e Higa (1994) a seleção com base no índice multiefeitos maximiza o progresso genético em um caráter, independentemente da estrutura experimental, e deve ser adotada nos programas computacionais destinados ao ordenamento de indivíduos com base em valores genéticos, pois neste método a seleção é baseada em medidas genéticas

(valores genéticos líquidos) e não fenotípicas, dos candidatos à seleção. Segundo os mesmos autores, com base nas simulações realizadas, constatou-se que o índice multiefeitos apresentou superioridade relativa à seleção combinada variando de 4% a 7,0% para estudos com *Eucalyptus*. Pesquisadores estão desenvolvendo trabalhos de comparação de vários métodos de seleção, obtendo superioridade com maiores ganhos na seleção com a utilização do índice multiefeitos (SAMPAIO; RESENDE; ARAÚJO, 2000; COSTA et al., 2000a; COSTA et al., 2000b; VERARDI et al., 2014).

### 3.3 UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES

Devido ao longo ciclo de melhoramento para a obtenção de um clone, novas metodologias poderiam ser desenvolvidas, com o intuito de manipular a variabilidade do germoplasma, bem como auxiliar os melhoristas nas estratégias de recombinação (GONÇALVES; MARQUES, 2008b).

Segundo Souza (2012) marcadores moleculares surgiram devido à necessidade de detecção de polimorfismo diretamente no DNA. Eles são definidos como características genéticas que diferenciam dois ou mais indivíduos e possuem herança mendeliana. Os diversos tipos de marcadores moleculares disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada, pela sua capacidade de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e reprodutibilidade.

A maioria das características de importância agrônômica é controlada por um grande número de genes, que contribui com um pequeno efeito positivo ou negativo para a expressão da característica. O uso de marcadores moleculares permite o dissecamento dos componentes gênicos das características quantitativas e, conseqüentemente, o acompanhamento da segregação dos genes envolvidos na característica (PETERSON et al., 1988). Os marcadores moleculares podem ser utilizados para estimar a diversidade genética, facilitar a seleção genotípica, identificar germoplasma, construir mapas genéticos e obter informações sobre a estrutura das características quantitativas, oferecendo subsídios para o entendimento da ação gênica (BORÉM; MIRANDA, 2009).

Segundo Milach (1998), as metodologias utilizadas para identificar os tipos de marcadores moleculares dividem-se em dois grupos: hibridização ou amplificação de DNA. Entretanto Gonçalves e Marques (2008b) detalham que os marcadores moleculares foram desenvolvidos podendo ser classificados em três categorias: primeira geração (RFLPs, RAPDs e modificações), segunda geração baseada principalmente em técnicas de PCR com

*Simple Sequence Repeats* (SSRs) ou microssatélites, *Amplified Fragment Length* (AFLPs) e suas modificações e terceira geração com marcadores do tipo *Expressed Sequence Tags* (ESTs) e *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs).

Avanços tecnológicos em curso em todas as áreas do conhecimento significa que não podemos ter certeza de que as tecnologias vão sobreviver ao impacto da inovação, e por quanto tempo. Ao longo dos anos, os avanços na metodologia de genética molecular têm levado ao uso generalizado de marcadores moleculares codominantes, especialmente *Simple Sequence Repeats* (SSR) e, mais recentemente, Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs.) (VIEIRA et al., 2016).

### **3.3.1 Marcadores moleculares microssatélites em seringueira**

Entre os marcadores moleculares existentes, os microssatélites ou SSR vêm sendo amplamente utilizados no melhoramento vegetal por apresentarem maior conteúdo informativo. Os marcadores microssatélites se distinguem dos demais por serem abundantes, estarem distribuídos por todo o genoma, apresentarem polimorfismo do tipo codominante, serem de natureza multialélica, necessitarem de pequenas quantidades de DNA e serem transferíveis entre espécies de um mesmo gênero (GRATTAPAGLIA, 2001).

Os microssatélites são sequências repetidas em tandem que variam de 1 a 6 pares de bases e são classificados de diferentes maneiras, dependendo de seu tamanho, tipo de unidade de repetição e sua localização no genoma. Abundantes e bem distribuídos nos eucariotos, os SSR destacam-se pela grande variação no número de repetições, resultantes de eventos mutagênicos dinâmicos e complexos como: crossing over desigual, retrotransposição e, sobretudo, deslizamento da DNA polimerase (*slippage*) (CAIXETA; FERRÃO; MACIEL-ZAMBOLIM, 2013). São muito úteis quando o intuito é diferenciar genótipos de materiais muito similares, devido a sua alta frequência de heterozigosidade e sua característica multialélica, propiciando discriminação mais precisa (KIRST et al., 2005). A grande limitação dessa classe de marcadores reside na necessidade do isolamento e desenvolvimento de primers específicos para cada espécie, sendo esse processo demorado, trabalhoso e de alto custo. Entretanto, essa tarefa vem sendo facilitada com o sequenciamento de DNA de diferentes espécies, que resultou na disponibilização de milhares de sequências, aliados às novas técnicas de bioinformática, permitiram que o desenvolvimento de primers SSR ocorresse sem a necessidade de todas as etapas iniciais da estratégia tradicional, tornando o processo menos trabalhoso (CAIXETA; FERRÃO; MACIEL-ZAMBOLIM, 2013).

Os marcadores SSR têm sido empregados com sucesso em espécies florestais como ferramenta de estudo de estrutura genética de populações e sistema de reprodução (SILVA, 2010). Para seringueira, o uso da técnica é bastante utilizado Gouvêa et al., (2010) realizaram estudos com SSR e encontraram alta diversidade genética para 60 genótipos de *H. brasiliensis*. Gonçalves, Campos e Ferreira Filho (2013) utilizando marcadores moleculares do tipo microssatélite identificaram clones de seringueira por perfil único de DNA, sendo o loco AGHE25 útil para evidenciar o perfil único de bandas dos clones MDX624, FDR5665, FDR 5788, RRIM 908, RRIM 901 e o loco AGHE56 útil para evidenciar perfil único de DNA dos clones FDR 4575, Fx 3899, Fx 4098, IAC 5, IAC 40, IAC 411, IAN 6484, IAN 873, MDF 180, MDX 607 e PB 350, bem como, o estudo da heterozigosidade em população de clones para os programas de melhoramento genético. Perseguini et al. (2012), utilizando marcadores EST-SSR, verificaram a transferabilidade desses marcadores desenvolvidos para *Hevea brasiliensis*, para outras espécies do gênero *Hevea*.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, P. S. Diversidade genética em genótipos de *Hevea* de origens amazônica e asiática. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 53, n. 307, p. 285-291, 2006.
- ARANTES, F. C.; GONÇALVES, P. S.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MORAES, M. L. T.; RESENDE, M.D.V. Ganho genético com base no tamanho efetivo populacional de progênes de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 12, p. 1419-1424, 2010.
- ARANTES, F. C.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; GONÇALVES, P. S.; MORAES, M. L. T.; GONÇALVES, E.C.P.; RESENDE, M.D.V. Adaptability and stability in rubber tree progenies under different environmental conditions. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 33, n. 73, p. 37-44, 2013.
- BEILEN, J. B.; POIRIER, Y. Establishment of a new crops for the production of natural rubber. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 25, n. 11, p. 522-528, 2007.
- BOOCK, M. V. et al. Herdabilidade, variabilidade genética e ganhos genéticos para produção e caracteres morfológicos em progênes jovens de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 5, p. 673-681, 1995.
- BOREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 5. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009. 529 p.
- CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (Ed.). **Biotechnology aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013. p. 31-68.
- COSTA, R. B. **Métodos de seleção, interação genótipo x ambiente e ganho genético para o melhoramento da Seringueira no estado de São Paulo**. 1999. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.
- COSTA, R. B.; GONÇALVES, P. S.; RÍMOLI, A. O.; ARRUDA, E. J. Melhoramento e conservação genética aplicados ao desenvolvimento local – o caso da seringueira (*Hevea* sp.). **INTERAÇÕES, Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 1, n. 2, p. 51-58, 2001.
- COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; ARAUJO, A. J.; GONÇALVES, P. S.; BORTOLETTO, N. Seleção combinada univariada e multivariada aplicada ao melhoramento genético da seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p. 381-388, 2000a.
- COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; ARAUJO, A. J.; GONÇALVES, P. S.; HIGA, A. R. Selection and genetic gain in rubber tree (*Hevea*) populations using a mixed mating system. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, n. 23, v. 3, p. 671-679, 2000b.

COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; GONÇALVES, P. S.; OLIVEIRA, L. C. S.; ÍTAVO, L.C.V.; ROA, R.A.R. Seleção simultânea para porte reduzido e alta produção de látex em seringueira. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 649-654, 2008.

COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; GONÇALVES, P. S.; ROA, R. A. R.; FEITOSA, K. C. O. Predição de parâmetros e valores genéticos para caracteres de crescimento e produção de látex em progênies de seringueira. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 49-56, 2010.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Ed. UFV, 2003. V. 2, p. 338-434.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 394 p.

CUCO, S. M. **Caracterização citomorfológica da seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.DC.) Muell Arg.]**. 1997. 137 f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

FURLANI, R. C. M. **Caracterização de progênies de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.DC.) Muell-Arg.] na Região de Ilha Solteira –SP**. 2001. 113 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2001.

FURLANI, R. C. M.; MORAES, M. L. T.; RESENDE, M. D. V.; FURLANI JUNIOR, E. ; GONÇALVES, P. S.; FILHO, W. V. V.; PAIVA, J. R. Estimation of variance components and prediction of breeding values in rubber tree breeding using the REML/BLUP procedure. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 271-276, 2005.

GONÇALVES, P. S.; AGUIAR, A. T. E.; COSTA, R. B.; GONÇALVES, E. C. P.; SCALOPPI JÚNIOR, E. J.; BRANCO, R. B. F. Genetic variation and realized genetic gain from rubber tree improvement. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 1, p. 44-51, 2009.

GONÇALVES, P. S.; AGUIAR, A. T. E.; GOUVÊA, L. R. L. Expressão fenotípica de clones de seringueira na região noroeste do estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 3, p. 389-398, 2006.

GONÇALVES, P. S.; BORTOLLETO, N.; CARDINAL, A. B. B.; GOUVÊA, L. R. L.; COSTA, R. B.; MORAES, M. L. T. Age-age correlation for early selection of rubber tree genotypes in São Paulo, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 758-764, 2005.

GONÇALVES, P. S.; BORTOLETTO, N.; SANTOS, W. R.; ORTOLANI, A. A.; GOTTARDI, M. V. C.; MARTINS, A. L. M. Avaliação genética de progênies em meios-irmãos de seringueira em diferentes regiões do Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 33, n. 7, p. 1085-1095, 1998. Disponível em: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pub/article/viewFile/4937/7066>>. Acesso em: 10 jan. 2014.

GONÇALVES, R. C.; CAMPOS, T.; FERREIRA FILHO, J. A. Tecnologia para a identificação de clones de seringueira (*Hevea* spp.) por meio de análise de marcadores

microssatélites. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEVEICULTURA, 2, 2013, Guarapari. **Anais...** Gurapari, 2013. Disponível em: <  
<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/976118/1/24847.pdf>>. Acesso: 15 jan. 2014.

GONÇALVES, P. S.; CARDOSO, M.; ORTOLANI, A. A. Origem, variabilidade e domesticação da Hevea: uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 2 p. 135-156. 1990.

GONÇALVES, P. S.; FONTES, J. R. A. Domesticação e melhoramento de seringueira. In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Org.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa: Suprema, 2009. p. 395-423.

GONÇALVES, P. S.; MARQUES, J. R. B. Clones de seringueira: influência dos fatores ambientais na produção e recomendação para o plantio. In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Ed.). **Seringueira**. Viçosa: Epamig, 2008a. p. 178-247.

GONÇALVES, P. S.; MARQUES, J. R. B. Melhoramento genético da seringueira: passado, presente e futuro. In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Ed.). **Seringueira**. Viçosa: Epamig, 2008b. p. 401-407.

GONCALVES, P. S.; MARTINS, A. L. M.; BORTOLETTO, N.; SAES, L. A. Selection and genetic gains for juvenile traits in progenies of Hevea in São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 207-214, 2004.

GONÇALVES, P. S.; MORAES, M. L. T.; BORTOLETTO, N.; COSTA, R. B.; GONÇALVES, E. C. P. Genetic variation in growth traits and yield of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) growing in the Brazilian state of São Paulo. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 765-772, 2005.

GONÇALVES, P. S.; ORTOLANI, A. A.; CARDOSO, M. **Melhoramento genético da seringueira: uma revisão**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. 55 p. (IAC. Documentos, 54).

GOUVÊA, L. R. L. **Diversidade genética em seringueira estimadas através de técnicas multivariadas e marcadores moleculares microssatélites**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2009.

GOUVÊA, L. R. L.; SILVA, G. A. P.; VERARDI, C. K.; OLIVEIRA, A. L. B.; GONÇALVES, P. S. Simultaneous selection of rubber yield and girth growth in young rubber trees. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 50, p. 39-43, 2013.

GOUVÊA, L. R. L.; RUBIANO, L. B.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; PAULO DE SOUZA GONÇALVES, P. S. Genetic divergence of rubber tree estimated by multivariate techniques and microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, n. 33, v. 2, p. 308-318, 2010.

GRATTAPAGLIA, D. **Marcadores moleculares em espécies florestais: *Eucalyptus* como modelo**. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-ILGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 967-1010.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA-IEA. **Custos de manutenção e rentabilidade da seringueira em plena produção, Região Noroeste do Estado de São Paulo, 2014.**

Disponível em:< <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13598>>. Acesso em: 12 dez 2016.

JAIN, S. M.; PRIYADARSHAN, P. M. **Breeding plantation tree crops: tropical species.** New York: Springer, 2009. 654 p.

KIRST, M.; CORDEIRO, C. M.; REZENDE, G. D. S. P.; GRATTAPAGLIA, D. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding populations. **Journal of Heredity**, Washington, v. 96, n. 2, p. 161–166, 2005.

KUBOTA, T. Y. K.; MORAES, M. A.; SILVA, E. C. B.; PUPIN, S.; AGUIAR, A. V.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SATO, A. S.; MACHADO, J. A. R.; SEBBENN, A. M. Variabilidade genética para caracteres silviculturais em progênes de polinização aberta de *Balfourodendron riedelianum* (Engler). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 106, p. 407-415, 2015.

LAWS, B. **50 plantas que mudaram o rumo da história.** Rio de Janeiro: Sextante, 2013. p. 98-103.

MAJUMDAR, S. K. Male sterile clones in *Hevea brasiliensis*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 45, n. 1, p. 145-146, 1966.

MARQUES, J. R. B.; MONTEIRO, W. R.; LOPES, U. V. VALLE, R. R. M. O cultivo do cacaueteiro em sistemas agroflorestais com a seringueira. In:\_\_\_\_\_. **Ciência, tecnologia e manejo do cacaueteiro.** Itabuna: Gráfica e Editora Vital, 2007. p. 272-290.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. (Ed.). **Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1998. p. 17-28.

MORETI, D.; GONÇALVES, P. S.; GORGULHO, E. P.; MARTINS, A. L. M.; BORTOLETTO, N. Estimativas de parâmetros genéticos e ganhos esperados com a seleção de caracteres juvenis em progênes de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 7, p. 1099-1109, 1994.

OSTENDORF, F. F. W.; RAMAER, H. On ptyllotaxis in *Hevea*. **Archives Rubberculture in Nederlandshc-Indië**, Baravia, n. 15, p. 437-440, 1931.

PAIVA, J. R. et al. Parâmetros genéticos em seringueira em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 6, n. 3, p. 505-525, 1983.

PAIVA, J. R.; RESENDE, M. D. V.; CORDEIRO, E. R. Índice multiefeitos e estimativas de parâmetros genéticos em aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 6, p. 799-807, 2002.

PERSEGUINI, J. M. K. C.; ROMÃO, L. R. C.; BRÍÑEZ, B.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; GONÇALVES, P. S.; BENCHIMO, L. L. L. Genetic diversity of cultivated accessions and wild species of rubber tree using EST-SSR markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, n. 8, p. 1087-1094, 2012.

PETERSON, A. H.; LANDER, E. S.; HEWITT, J. D.; PETERSON, S.; LINCOLN, S. E.; TANKSLEY, S. D. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. **Nature**, Washington, v. 335, p. 721-726, 1988.

PINO, F. A.; FRANCISCO, V. L. F. S.; MARTIN, N. B.; CORTEZ, J. V. Perfil da heveicultura no estado de São Paulo, 1995-96. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 8-21, 2000.

PIRES, J. M. **O gênero hevea**: descrição das espécies e distribuição geográfica. Brasília: Plano Nacional da Borracha, 1910. 1971. (Mimeogr.).

POLHAMUS, L. G. Botany of *Hevea*. In: POLHAMUS, L. G. **Rubber, botany production and utilization**. London: Leonard Hill, 1962. p. 63-90.

RESENDE, M. D. V. Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 19, n. 4, p. 479-500, 1995.

RESENDE, M. D. V.; FERNANDES, J. S. C. Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. **Revista de Matemática e Estatística**, Marília, v. 17, p. 87-109, 1999.

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Maximização da eficiência da seleção em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisas Florestais**, Curitiba, v. 28/29, p. 37-56, 1994.

RIPPEL, M. M.; BRAGANCA, F. C. Borracha natural e nanocompósitos com argila. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 818-826, 2009. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/Centros/Centro\\_cafe/seringueira](http://www.iac.sp.gov.br/Centros/Centro_cafe/seringueira)>. Acesso em: 26 fev. 2013.

SAMPAIO, P. T. B.; RESENDE, M. D. V.; ARAÚJO, A. J. Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 11, p. 2243-2253, 2000.

SANTOS, G. R.; MOTHÉ, C. G. Prospecção e perspectivas da borracha natural, *Hevea brasiliensis*. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 32, p. 26-40, 2007.

SECCO, R.S. A botânica da seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell-Arg.] In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Ed.). **Seringueira**. Viçosa: Epamig. 2008. p. 01-24.

SCHROTH, G.; COUTINHO, P.; MORAES, V. H. F.; ALBERNAZ, A. K. M. Rubber agroforests at the Tapajós river, Brazilian Amazon: environmentally benign land use systems in an old forest frontier region. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 151–165, 2003.

SANTOS, F. W.; MORAES, M. L. T.; FLORSHEIM, S. M. B.; LIMA, I. L.; SILVA, J. M.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Variação genética para caracteres anatômicos e retração volumétrica e sua correlação com a densidade básica da madeira em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 159-170, 2010.

SIEBERT, R. J. A study of *Hevea* (with its economic aspects) in the Republic of Peru. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 34, p. 261-353, 1947.

SILVA, J. M.; AGUIAR, A. V.; MORI, E. S.; MORAES, M. L. T. Variação genética e ganho esperado na seleção de progênies de *Pinus caribaea* var. *caribaea* em Selvíria, MS. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 90, p. 241-252, 2011.

SILVA, J. M. **Avaliação da variabilidade genética em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. para fins de conservação e melhoramento genético**. 2010. 153 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

SILVA, J. Q. **Sazonalidade da produção e características de borracha natural de clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) em diferentes estádios fenológicos**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 939-966.

SOUZA, L. M.; LE GUEN, V.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SILVA, C. C.; MANTELLO, C. C.; CONSON, A. R. O.; VIANNA, J. P. G.; ZUCCHI, M. I.; ERIVALDO SCALOPPI JUNIOR, J.; FIALHO, J. F.; MORAES, M. L. T.; GONÇALVES, P. S.; SOUZA, A. P. Genetic diversity strategy for the management and use of rubber genetic resources: More than 1,000 wild and cultivated accessions in a 100-genotype core collection. **Plos One**, San Francisco, v. 10, p. 1-20, 2015.

SOUZA, L. M. **Mapa genético-molecular para *Hevea brasiliensis* e mapeamento de QTL'S para características de importância econômica**. 2012. 111 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

TAN, H.; ONG, S. H.; SULTAN, M.O.; KHOO, S. K. Potential of promotion plot clone trials in shortening clonal evolution period. In: INTERNATIONAL RUBBER RESEARCH DEVELOPMENT BOARDS SYMPOSIUM, Hat Hay, 1981. **Proceedings...** Hat Hay, 1981. 81 p.

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

VERARDI, C. K.; OLIVEIRA, A. L. B.; SILVA, G. A. P.; GOUVÊA, L. R. L.; GONÇALVES, P. S. Comparison between different selection methods of rubber trees. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, n. 52, p. 255– 263, 2014.

VERARDI, C. K.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; GONÇAVES, P. S. Prediction of direct and indirect genetic gains and genotypic correlations in rubber tree progenies. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 9, p. 1076-1081, 2011.

VERARDI, C. K.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; SILVA, G. A. P.; GOUVÊA, L. R. L.; GONÇALVES, P. S. Genetic parameters and estimated genetic gains in young rubber tree progenies. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 48, n. 4, p. 411-416, 2013.

VIEIRA, M. L. C.; SANTINI, L.; DINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

WARMKE, H. E. Studies on natural pollination of *Hevea brasiliensis* in Puerto Rico. **Science**, Washington, v. 113, p. 646-648, 1951.

WARMKE, H. E. Studies on natural pollination of *Hevea brasiliensis* in Brazil. **Science**, Washington, v. 116, p. 474-475, 1952.

WEBSTER, C. C.; PAARDEKOOOPER, E. C. The botany of the rubber tree. In: WEBSTER, C. C.; BAULKWILL, W. J. (Ed.). **Rubber**. London: Longman Scientific & Technical, 1989. p. 57-84.

## 4 CAPÍTULO I

Varição genética e ganhos esperados em duas populações de seringueira em Selvíria, MS



## RESUMO

Objetivo do presente trabalho foi de realizar a caracterização quantitativa, estimando variação genética e ganhos na seleção para caracteres de crescimento e produção de borracha seca em duas populações de *Hevea brasiliensis*. A primeira população do estudo é originária da floresta primária de Rio Branco- Acre (população selvagem-PS), e a outra, trata-se de uma população, originada de matrizes clonais (população melhorada-PM). Encontram-se instaladas na forma de teste de progênies na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), localizada em Selvíria, MS. Para as duas populações foram avaliados os seguintes caracteres silviculturais de crescimento, altura (ALT), altura comercial (AC), diâmetro médio de copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule (PAP e P50) e produção de borracha seca (PBS), aos oito (PM) e 23 (PS) anos de idade. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, compostos por 31 famílias, quatro repetições e parcelas lineares de 10 plantas, no espaçamento de 3 x 3 m (PM). Para PS o delineamento experimental foi de blocos causalizados com 37 famílias distribuídas em três repetições, de forma desbalanceada com no máximo 10 plantas por progênies no com espaçamento de 5 x 3 m (PS). As estimativas dos parâmetros genéticos foram feitas utilizando-se a metodologia de modelo linear misto univariado aditivo REML/BLUP e ganhos na seleção pelo método índice multiefeitos (IME). Foram detectadas diferenças significativas pelo teste da razão de verossimilhança na análise de *deviance* das procedências para os caracteres, diâmetro médio de copa (DMC), perímetro a 50 cm do solo (P50), perímetro a 1,30 m do solo (PAP) e produção de borracha seca (PBS), para PM. Para população selvagem foram significativos os caracteres ALT, DMC, P50 e PAP. De modo geral a PS apresentou herdabilidades de maiores magnitudes do que a PM. Os caracteres que apresentaram maior magnitude para as herdabilidades foram a PBS, para população melhorada e PAP, PBS para a população selvagem, com herdabilidades acima de 60%. As estratégias de seleção de 50%, 40% e 22% dos indivíduos para o caractere PBS e PAP utilizando o índice multiefeitos revelaram altos e baixos ganhos na seleção nas duas populações. Para PM foi mais indicado a estratégia de seleção entre e dentro e para PS a seleção individual. Os ganhos obtidos na seleção foram de 54% para o caráter PBS na população melhorada e de 0,46% para o caráter PAP para população selvagem.

**Palavras-Chave:** *Hevea brasiliensis*. Estimativa de parâmetros genéticos. Índice mutiefeitos

### Abstract

Objective of this study was to perform a quantitative characterization, estimating genetic variability and gains in selection for growth traits and dry rubber yield in two populations of *H. brasiliensis*. The first study population is originally from primary forest of Rio Branco Acre (wild population-PS), and the other, it is a population originated from clonal matrices (improved population-PM). They are installed as progeny tests at the Teaching, Research and Extension Farm, That belongs to Engeneering College of the Julio Mesquita Filho State University of São Paulo, In Selvira, State of South Mato Grosso Brazil. For the two populations, the following silvicultural characteristics of growth, height (ALT), commercial height (AC), average crown diameter (DMC), stem shape (FOR), stem perimeter (PAP and P50) and dry rubber yield (PBS) at eight (PM) and 23 (PS) years old. The experimental design was a randomized complete block, consisting of 31 families, four replications and linear plots of 10 plants, spaced 3 x 3 m (PM). PS The experimental design was blocks causalizados with 37 families distributed in three replicates of unbalanced form with a maximum of 10 plants per progeny in with spacing of 5 x 3 m (PS). Estimates of genetic parameters were made using the methodology of mixed linear model univariate additive REML / BLUP and gains in the selection method for multi-effects index (EMI). Significant differences were detected by the likelihood ratio test in the deviance analysis for the characters, mean crown diameter (DMC), stem perimeter at 50 cm from soil (P50), stem perimeter at 1,30m from soil (PAP) and dry rubber yield (PBS) for PM. For wild populations were significant, the characters ALT, DMC, P50 and PAP. The characters that presented the greatest magnitude for the heritabilities were PBS, for improved population and PAP, PBS for the wild population, with heritabilities above 60%. The selection strategies of 50%, 40% and 22% of individuals for the PBS and PAP using the multi-effects index revealed high and low gains in the selection of the two populations. For PM it was more indicated the strategy of selection between and within and for PS the individual selection. The gains obtained in the selection were 54% for the PBS character in the improved population and 0,46% for the PAP character for the wild population.

**Keywords:** *Hevea brasiliensis*. Estimation of genetic parameters. Multi-effect index

## 4.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Hevea* pertence à família Euphorbiaceae, que compreende outros gêneros importantes como *Ricinus* (mamona) e *Manihot* (mandioca). Para Diniz et al. (2010) *H. brasiliensis* é a espécie que possui a maior capacidade produtiva de látex e maior variabilidade genética para resistência a doenças dentre todas as outras 11 espécies pertencentes ao gênero *Hevea*, conhecidas no Brasil. Portanto, a espécie mais importante do ponto de vista econômico (GONÇALVES et al., 2001).

Conhecer as características genéticas das populações de estudo é essencial para tornar a seleção mais eficaz. Os dados qualitativos são úteis para estimar a variação genética, e com base em dados de herdabilidade e as correlações genéticas entre as variáveis de importância econômica, os ganhos genéticos podem ser estimados após sucessivos ciclos de seleção. Os dados quantitativos determinam as estratégias de seleção mais adequadas para superar as dificuldades na seleção de genótipos superiores e ampliar o conhecimento sobre a estrutura genética em populações de seringueira (SILVA et al., 2012).

O conhecimento da variabilidade genética existente em uma população é a base para o melhoramento, por isso, é fundamental a estimativa de parâmetros genéticos que descrevam os níveis de variação genética entre progênies, a magnitude do controle genético dos caracteres e os ganhos esperados com a seleção. Destaca-se, entre os parâmetros genéticos quantitativos, o coeficiente de herdabilidade, que expressa a herança genética presente na variação fenotípica (SEBBENN et al., 1994; FREITAS et al., 2006).

Os testes de progênies, instrumentos importantes para o trabalho do melhorista, são usados na estimativa de parâmetros genéticos e seleção de indivíduos, quando se procura avaliar a magnitude e a natureza da variância genética disponível, com vistas a quantificar e maximizar os ganhos genéticos, utilizando-se procedimento de seleção adequado. Os caracteres normalmente avaliados nesses experimentos com a seringueira referem-se à altura, perímetro do caule e produção de látex, sendo a seleção geralmente baseada nesse último (COSTA et al., 2000; COSTA et al., 2008; COSTA et al., 2010).

O teste de progênies, o qual geralmente compreende um período de três anos, é a primeira das três etapas que englobam o ciclo completo do melhoramento da cultura. Nessa etapa é onde ocorre a seleção dos indivíduos (denominados “ortetes”) mediante avaliações do vigor, como altura da planta e diâmetro do caule, arquitetura da copa, testes precoces de produção, tolerância a pragas e doenças e caracteres anatômicos da casca. Após esta etapa, os

melhores indivíduos são clonados e testados em experimento de avaliação de pequena escala, denominada segunda etapa de seleção (AGUIAR; BRANCALIÃO; ROSSI, 2012)

Os programas tradicionais de melhoramento genético no Brasil têm-se baseado, principalmente, na seleção entre e dentro de famílias (seleção individual). Nesse esquema, identificam-se, em uma primeira etapa, as melhores famílias com base na média das parcelas. No caso de famílias de meio-irmãos, são explorados apenas 25% da variância aditiva total na seleção entre famílias. Na etapa seguinte, selecionam-se nas famílias as plantas de melhor desempenho. Tal prática proporciona ganhos adicionais por explorar a fração da variância não utilizada na seleção entre, mas apresenta o inconveniente de se basear em valores fenotípicos individuais, sujeitos a maior influência dos efeitos ambientais (FALCONER, 1987).

No contexto dos modelos mistos, um procedimento utilizado é o REML (*Restricted Maximum Likelihood*), que é uma generalização da ANAVA para situações mais complexas e que permite a estimação dos componentes de variância e parâmetros genéticos para a situação de dados desbalanceados e de heterogeneidade de variâncias. Outro procedimento interessante para a predição de valores genéticos é o BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*), sendo mais adequado quando considera os efeitos genotípicos como aleatórios, visando a obtenção dos BLUPs dos referidos efeitos (RESENDE, 2004).

Para Resende (1995), a adoção de estratégias eficientes de melhoramento florestal, depende do uso de métodos acurados de seleção. Para isso pode-se utilizar o método do Índice Multiefeitos (IME), que explora frações da variância genética aditiva que não são consideradas na seleção entre e dentro de progênies e sugerem que uma seleção mais efetiva poderia ser realizada ponderando os valores individuais e os valores das suas respectivas famílias. Nesse método, a seleção é baseada em medidas genéticas (valores genéticos líquidos) e não fenotípicas, dos candidatos à seleção (RESENDE; HIGA, 1994). Vários estudos foram realizados por meio do método IME, devido aos ganhos mais expressivos obtidos na seleção (COSTA et al., 2000; SANTOS et al., 2010; ARANTES et al., 2010; TUNG et al., 2010; SILVA et al., 2011; VERARDI et al., 2013; VERARDI et al., 2014 KUBOTA et al., 2015)

## 4.2 OBJETIVOS

Realizar a caracterização quantitativa, estimando variação genética para caracteres de crescimento e produção de borracha seca em dois testes de progênies de *H. brasiliensis*.

Definir estratégia de melhoramento genético, ganhos na seleção e conservação *ex situ*. Com base nos parâmetros genéticos obtidos pretende-se responder as seguintes questões:

- i) Qual o caráter indicado para realizar a seleção em um possível programa de melhoramento?
- ii) Qual será a predição de ganho na seleção e qual a melhor estratégia de seleção para garantir níveis adequados de variabilidade genética?

### 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.3.1 Local de estudo

As populações encontram-se instaladas na forma de teste de progênes na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), localizada em Selvíria, MS (Figura 2).

Figura 2 - Local de estudo na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), Selvíria-MS. A-Teste de progênes PS; B-Teste de progênes PM; C- Sede da fazenda



Fonte: Google maps

A localização geográfica aproximada da área do experimento está na latitude 20° 22' 01' S, longitude 51° 25' 08' W e 357 metros de altitude. O relevo é caracterizado como moderadamente plano e ondulado. O clima do local é do tipo Aw, pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 24,5° C, umidade média anual de 64,8%, precipitação média anual de 1232,2 mm e insolação média de 7,3 horas/dia (HERNANDEZ; LEMOS FILHO; BUZETTI, 1995). O solo local foi classificado segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 1999), como Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso, A moderado, hipidistrófico, álico, caulínítico, férrico, compactado, muito profundo, moderadamente ácido (LVd).

#### **4.3.2 As populações de seringueira**

A primeira população foi descrita por Paiva (1992) e Paiva et al. (1994) é originária da floresta primária de Rio Branco-Acre, gerada por polinização aberta, caracterizada por não ser submetida a nenhum programa de melhoramento (PS, população selvagem) (Apêndice 1). A segunda trata-se de uma população gerada por polinização aberta de matrizes clonais selecionadas: 1-12-56-77, 64B 850, Fx (2261 e 3864), GT1, IAC (15, 35, 40, 41, 44, 301, 307 e 311,), IAN 873, IRCA 111, MT 45, PB (28/59, 217, 235, 252, 260 e 330), Pind 595/89, PR (255 e 261), RO-I (35 e 110), RRIM (600, 606, 701 e 725), procedentes do Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais, IAC (Instituto Agrônômico). Portanto, faz parte de um programa de melhoramento em estágio avançado (PM, população melhorada) (Apêndice 2). O teste de progênies da PS foi instalado em seis de dezembro de 1991, no espaçamento de 5 x 3 m, com delineamento experimental em blocos casualizados com 37 progênies distribuídas em três repetições, de forma desbalanceada com no máximo 10 plantas por progênies. A PM foi instalada como teste de progênies em cinco de setembro de 2006 com delineamento experimental de blocos casualizados, compostos por 31 tratamentos (progênies), quatro repetições e parcelas lineares de 10 plantas, no espaçamento de 3 x 3 m.

#### **4.3.3 Coleta de dados: Caracteres silviculturais**

Os caracteres silviculturais foram coletados entre 2014 e 2015. Os caracteres mensurados para cada população de estudo, foram:

a) Altura comercial (AC) e altura total (ALT) em metros, por meio de Hipsometro Vertex;

- b) Perímetro do caule a 50 cm do solo (P50) com auxílio de fita métrica (cm);
- c) Perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP), com auxílio de fita métrica (cm);
- d) Forma do fuste das árvores (FOR), sendo esta obtida com base na média aritmética entre as duas medidas obtidas por escala de notas de 1 a 5:

❖ Considerando a Bifurcação do fuste (BI):

- 1: Bifurcação abaixo de 1,30 com diâmetro igual ao fuste principal;
- 2: Bifurcação acima de 1,30 com diâmetro igual ao fuste principal;
- 3: Bifurcação abaixo de 1,30 com diâmetro inferior ao fuste principal
- 4: Bifurcação acima de 1,30 com diâmetro inferior ao fuste principal;
- 5: Sem bifurcação.

❖ Considerando a Retidão, ou tortuosidade do fuste (TO):

1. Tortuosidade acentuada em toda a extensão
2. Tortuosidade acentuada abaixo de 1,30 m;
3. Tortuosidade acentuada acima de 1,30 m;
4. Leve tortuosidade em toda extensão;
5. Sem tortuosidade.

Sendo representada pela seguinte expressão:

$$FOR = \frac{BI + TO}{2}$$

❖ Escala de notas e descrição da classe de forma do fuste das árvores (FOR) (KAGEYAMA et al., 1979).

1. Tronco com defeito muito grave; tronco muito tortuoso;
2. Tronco com defeito grave; tronco com tortuosidade acima da média;
3. Tronco com defeito bastante visível; tronco com tortuosidade média (até 3,5m);
4. Tronco com defeito pouco visível; tronco com tortuosidade abaixo da média (até 4,5m);
5. Tronco sem defeito; tronco tendendo à retidão ou reto (> 4,5m).

e) Diâmetro médio da projeção da copa (DMC), com medição da projeção da copa ao solo, na linha (DL) e entrelinha (DEL) de cada planta por meio de trenas. O carácter (DMC) foi gerado por meio da média aritmética das duas medidas obtidas, sendo apresentado pela seguinte expressão:

$$DMC = \frac{DL + DEL}{2}$$

#### 4.3.4 Coleta de dados: Exploração de látex

A atividade de exploração de látex, comumente denominada de sangria, que possibilita estimar a produção de borracha seca (PBS) foi realizada entre os meses de novembro de 2014 a fevereiro de 2015. A metodologia utilizada foi por meio do teste Hamaker Morris-Mann (HMM). Em totalidade foi realizada 15 sangrias consecutivas com sistema de S/2 d7 ET 2,5% (sangria em meia espiral a cada 7 dias com estimulação de ethefon a 2,5%). As primeiras cinco sangrias consecutivas foram descartadas para realização da estimulação do painel (amansamento do painel). Em seguida foi aplicado o estimulante químico, ethefon a 2,5%, e realizadas 10 sangrias consecutivas que foram devidamente quantificadas, obtendo a massa (g), para cada corte.

Para as duas populações do estudo foram selecionadas as cinco melhores árvores, por meio do perímetro de caule, de cada família em três repetições. Para a PM totalizou 465 árvores exploradas. A PS também foi selecionada com o mesmo critério, porém por não haver a mesma quantidade de árvores por família, totalizou 190 árvores exploradas, devido algumas famílias terem menos de cinco árvores em todo o experimento.

#### 4.3.5 Análise estatística e estimativa de parâmetros genéticos

As estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita e melhor predição linear não viciada (REML/BLUP), empregando-se o *software* genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP (RESENDE, 2007b). O modelo estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso, progênies de meios irmãos, várias plantas por parcela:  $\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Za} + \mathbf{Wp} + \mathbf{e}$ ; em que:  $\mathbf{y}$ ,  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{p}$  e  $\mathbf{e}$  são vetores de dados, repetição, parcelas e erros.  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$  e  $\mathbf{W}$  são matrizes de incidência (RESENDE 2002; RESENDE, 2007a).

O modelo estatístico utilizado foi o de número 93, para os dois experimentos, que geram as estimativas dos componentes de variância (RESENDE, 2007a):

Variância genética aditiva:  $\hat{\sigma}_a^2$ ;

Variância ambiental entre parcelas:  $\hat{\sigma}_c^2$ ;

Variância residual (ambiental + não aditiva):  $\hat{\sigma}_e^2$ ;

Variância fenotípica individual:  $\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_e^2$ ;

Herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos:  $\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_f^2}$ ;

Herdabilidade individual no sentido restrito, ajustada para os efeitos de parcela:

$$\hat{h}_{aj}^2 = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2};$$

Coefficiente de determinação dos efeitos de parcela:  $\hat{C}_p^2 = \frac{\hat{\sigma}_c^2}{\hat{\sigma}_f^2}$ ;

Herdabilidade da média de progênies, assumindo sobrevivência completa:

$$\hat{h}_m^2 = \frac{(1/4)\hat{\sigma}_a^2}{(1/4)\hat{\sigma}_a^2 + \frac{\hat{\sigma}_c^2}{r} + \frac{(0,75\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2)}{nr}}; \text{ em que: } n \text{ é o número de plantas por parcela e } r \text{ é o}$$

número de repetições;

Acurácia da seleção de progênies, assumindo sobrevivência completa:  $\hat{r}_{\hat{a}a} =$

$$\sqrt{\frac{n}{n + \left(\frac{4 - \hat{h}_a^2}{\hat{h}_a^2}\right)}};$$

Herdabilidade aditiva dentro de parcela:  $\hat{h}_{ad}^2 = \frac{0,75\hat{\sigma}_a^2}{0,75\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2}$ ;

Coefficiente de variação genética aditiva individual:  $CV_{gi}(\%) = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_a^2}}{\hat{m}}100$ ; em que:  $\hat{m}$  é a

média geral do experimento;

Coefficiente de variação genotípica entre progênies:  $CV_{gp}(\%) = \frac{\sqrt{0,25\hat{\sigma}_a^2}}{\hat{m}}100$ ;

Coefficiente de variação residual:  $CV_e(\%) = \frac{\sqrt{[(0,75\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2)/n] + \hat{\sigma}_c^2}}{\hat{m}}100$ ;

Coefficiente de variação relativa:  $CV_r = \frac{CV_{gp}}{CV_e}$ .

#### 4.3.6 Seleção pelo método do Índice Multiefeitos (IME)

Para estimar o ganho de seleção foram utilizadas duas simulações de estratégias. Primeira simulação, a seleção dos primeiros indivíduos que apresentaram as maiores estimativas de  $\hat{a}$ , não levando em consideração o número de indivíduos que cada progênie

pudesse ter ( $k_f = \forall$ ), ou seja,  $k_f$  pode assumir qualquer valor, desde que  $k_f \neq 0$ . Aplicou-se para cada população a intensidade de 50% individual resultando em número total de indivíduos selecionados, variável entre as duas populações. Segunda simulação, a seleção estabelecendo um valor limite de  $k_f$ , nesse caso, o  $k_f$  considerado foi igual ao número de 12 árvores por famílias, o que representou uma intensidade de seleção de 40% para a PM e de 22% para a PS. O caráter empregado na seleção foi o com maior  $CV_r$  obtido para cada uma das populações de estudo.

O IME foi empregado objetivando a estimativa de ganhos na seleção. O IME possui a expressão (RESENDE, 2002):

$$\hat{I} = \hat{b}_1 Y_{ijk} + (\hat{b}_2 - \hat{b}_3) \bar{Y}_{i..} + (\hat{b}_3 - \hat{b}_1) \bar{Y}_{ij.} - \hat{b}_3 \bar{Y}_{.j.} + (\hat{b}_3 - \hat{b}_2) \bar{Y}_{...}, \text{ onde,}$$

$\hat{I}$ : índice multiefeitos;

$\bar{Y}_{...}$ : média geral do ensaio;

$Y_{ijk}$ : valor individual;

$\bar{Y}_{i..}$ : média da progênie no ensaio;

$\bar{Y}_{ij.}$ : média da progênie em determinado bloco (média da parcela);

$\bar{Y}_{.j.}$ : média do bloco;

$\hat{b}_1 = \hat{h}_d^2$ : herdabilidade, no sentido restrito, dentro de parcelas:  $\hat{h}_d^2 = \frac{(3/4)\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_d^2}$ ;

$\hat{b}_2 = \hat{h}_m^2$ : herdabilidade, no sentido restrito entre média de progênies:  $\hat{h}_m^2 = \frac{[(3+nb)/(4nb)]\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_p^2 + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{b} + \frac{\hat{\sigma}_d^2}{n.b}}$ ;

$\hat{b}_3 = \hat{h}_p^2$ : herdabilidade, no sentido restrito, de parcelas:  $\hat{h}_p^2 = \frac{[3/(4n)]\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_e^2 + \frac{\hat{\sigma}_d^2}{n}}$ ;

O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) foi obtido com base em Resende (2002a):

$$N_e = (4N_f \bar{k}_f) / [\bar{k}_f + 3 + (\sigma_{k_f}^2 / \bar{k}_f)]$$

em que:  $\bar{k}_f$  = número médio de indivíduos selecionados por matriz;  $\sigma_{k_f}^2$  = variância do número de indivíduos selecionados por matriz;  $N_f$  = nº de matrizes selecionadas.

A diversidade genética ( $D$ ), após a seleção, foi quantificada conforme Wei e Lindgren (1996),  $D = N_{ef}/N_{fo}$ , em que  $0 < D \leq 1$ ;  $N_{fo}$  = número original de matrizes;  $N_{ef}$  = número efetivo de matrizes selecionadas, sendo dado por:  $N_{ef} = (\sum k_f)^2 / \sum k_f^2$ .

O ganho foi gerado pela seguinte expressão:

$$GS(\%) = \left( \frac{\sum \hat{a}}{\sum k_f} 100 \right) / \hat{m} ;$$

em que,  $\hat{a}$  corresponde ao índice multiefeitos ( $\hat{I}$ ) e  $\hat{m}$  a média geral do caráter.

#### 4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.4.1 Estimativas de parâmetros genéticos para as populações: PM e PS

Os resultados referentes às estimativas dos parâmetros genéticos para os caracteres, altura comercial (AC), altura (ALT), diâmetro médio da copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule a 50 cm do solo (P50), perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP) e produção de borracha seca (PBS), para as populações PM e PS indicam o potencial dessas populações de *H. brasiliensis* para a conservação e o melhoramento genético (Tabelas 3 e 4).

Segundo o teste de razão de verossimilhança (LRT), obtido pela análise de deviance, para PM os caracteres significativos foram: DMC, P50, PAP e PBS. Para PS, os caracteres significativos foram: ALT, DMC, P50 e PAP. Essa informação é muito importante, pois para que haja progresso genético por meio da seleção é necessária à existência de variância entre progênies (FREITAS et al., 2009). Indica que a seleção dos indivíduos pode ser realizada por meio de um desses caracteres, mostrando diferenças reais e não por razões aleatórias nas famílias. Para as duas populações o caráter FOR, não apresentou significância, indicando que as famílias apresentam uma retidão e bifurcação do fuste mais uniformes, não sendo, portanto, um caráter exclusivo e potencial dessas famílias. Para PM, mensurada aos oito anos, nem o caráter altura, nem altura comercial foram significativos, provavelmente por não terem atingido todo o seu potencial de crescimento vertical, como ocorre na PS, mensurada aos 23 anos, mostrando famílias com diferenças não aleatórias na altura das mesmas. Entretanto, como a PM apresenta certo grau de melhoramento genético, o caráter PBS, apresentou significância, ao contrário da PS, que são provenientes de uma população natural de pés francos.

As médias obtidas para PAP e P50, para a PM, foram de 46 e 60 cm indicando perímetro suficiente para realização de abertura de painel (45 a 50 cm) (PEREIRA;

PEREIRA, 2001; GONÇALVES, 2007). Mesmo que esses valores possam ser poucos expressivos, para idade de oito anos, devido a abertura de painel ser realizada com sete anos em plantios comerciais, havendo ainda, na atualidade clones mais precoces, que apresentam esse perímetro mínimo para abertura de painel entre seis e cinco anos, para PM. Entretanto para a PS esses valores foram de 76 e 94 cm, respectivamente, valores mais expressivos, fato evidenciado devido aos 15 anos de diferença entre os experimentos, com oito e 23 anos após implantação, respectivamente.

As médias da altura total foram de 15 e 18 m para PM e PS respectivamente, indicando elevada altura atingida, pois, para a espécie entre 7 a 10 m, é considerado uma altura mediana, e muito grande, atingindo 15 a 50 m de altura, principalmente para a população melhorada com apenas 8 anos de idade, sendo considerada, portanto, em média árvores de grande porte. As alturas comerciais foram iguais para as duas populações atingindo 7,5 m, mostrando o potencial para explorações futuras de madeira (PM), que já atingiu a mesma altura comercial do que a população de 23 anos, embora a população selvagem esteja instalada em um espaçamento de 5 x 3 m, possibilitando maiores ramificações de copa. Característica semelhante que pode justificar maiores valores obtidos com DMC para PS (5,9m) contra 4,8 m para PM, apesar da diferença de idade, o espaçamento também pode ter contribuído para maior crescimento horizontal de copa.

Para o caráter FOR, as duas populações apresentaram valores médios próximos a 4, na escala de notas, indicando em geral, leve tortuosidade em toda extensão do caule, representando uma característica satisfatória para futuras explorações da madeira.

Para o caráter PBS a média foi de 246 g para PM e ligeiramente maior para a PS com 282 g, mas considerando o número de plantas exploradas, PBS foi de 53 g planta<sup>-1</sup> para a população melhorada, e de 148 g planta<sup>-1</sup> para população selvagem, mesmo com menor número de plantas exploradas e apesar da característica melhorada, o perímetro superior contribuiu para maior produção. Arantes et al. (2010), encontraram média superior de 94,73 g planta<sup>-1</sup>, aos três anos de idade para as mesmas progênies da população melhorada, apesar de explorar menos árvores em comparação ao do presente estudo. Há estudos que mostram que vigor (medido pelo perímetro de caule), é considerado o caráter mais importante para determinar a precocidade do clone, permitindo que o heveicultor tenha um retorno mais rápido do seu investimento, com maior produção nos primeiros anos de vida, o que confirmam a eficiência dos testes precoces (ALEM et al., 2015). Com base na elevada correlação entre o crescimento do perímetro anual e produção de borracha e os resultados

observados, é possível prever que a seleção com essa população é possível em plantas jovens com o ganho máximo e em curto espaço de tempo, minimizando o ciclo de reprodução de borracha (GONÇALVES et al., 2006; VERARDI et al., 2014).

O coeficiente de variação genética individual ( $CV_{gi}$ ), que expressa em porcentagem da média geral a quantidade de variação genética existente, apresentou elevada magnitude para o caráter PBS em relação aos outros caracteres avaliados, para as duas populações (47% e 88%), situação semelhante com outros estudos (COSTA et al., 2000; COSTA et al., 2008; ARANTES et al., 2010). O coeficiente de variação genética para a PM destacou-se consideravelmente dos demais para esse caráter, com 88%, indicando a natureza melhorada da população, para esse caráter. Outros caracteres que se destacaram, porém com menor magnitude, foram AC, DMC, P50 e PAP com amplitude de 12 a 15%, para a PM, e para todos os caracteres da PS, com amplitude de 13 a 25% com exceção do caráter FOR. A população selvagem apresentou valores de  $CV_{gi}$  % com maiores magnitudes que a PM, devido a idade de 23 anos, contribuir com valores médios de altura, copa e perímetros mais expressivos. O segundo  $CV_{gi}$  % mais expressivo observado foi para o caráter PAP, indicando que poderá ser contemplado, juntamente com outros de finalidade produtiva, no processo de seleção. Os valores do coeficiente de variação genotípica entre progênies ( $CV_{gp}$  %) foram de menor magnitude para PM, do que para PS, em gerais de baixo a média magnitudes, entretanto o  $CV_{gp}$  % para o caráter PBS foi de alta magnitude para a população melhorada com 44%.

Resende (1995) classifica os valores de herdabilidades variando de 0,01 até 0,15 como baixos, de 0,15 até 0,50 medianos e superiores a 0,50 como altos. Os valores obtidos das herdabilidades médias de progênies ( $\hat{h}_m^2$ ) mostraram-se de medianas a elevadas magnitudes (28 a 85%). Em geral a PS apresentou valores elevados para quase todos os caracteres (60 a 74%), exceto para PBS com valor moderado de 46%. Para a conservação desta espécie, altas herdabilidades em nível de média de progênies indicam que essas procedências têm potencial evolutivo para responder a mudanças ambientais, visto que parte significativa da variabilidade genética observada nos caracteres é de origem genética (KUBOTA et al., 2015).

As herdabilidades aditivas dentro de parcela ( $\hat{h}_{ad}^2$ ) para a população melhorada apresentaram valores de baixos a altos (4 a 62%) e para a população selvagem apresentou de médios a altas magnitudes (15 a 59%). As herdabilidades individuais no sentido restrito, ajustadas para efeitos de parcelas ( $\hat{h}_{aj}^2$ ) apresentaram situações semelhantes à ocorridas com  $\hat{h}_{ad}^2$ .

As herdabilidades individuais ( $\hat{h}_a^2$ ) estão com valores de medianas a altas magnitudes (25 a 66%) para as duas populações. Apenas AC e FOR, que apresentaram  $\hat{h}_a^2$ , inferiores com baixas magnitudes (8 e 6% respectivamente), para a PM.

De modo geral a PS apresentou herdabilidades de maiores magnitudes do que a PM. Os caracteres que apresentaram maior magnitude para as herdabilidades foram a PBS, para população melhorada e PAP e PBS para a população selvagem. Para os três tipos de herdabilidades alguns autores obtiveram resultados semelhantes para os caracteres PBS com perímetro acima de 60% (GONÇALVES et al., 2005; COSTA et al., 2008; COSTA et al., 2010; ARANTES et al., 2010; VERARDI; SCALOPPI JUNIOR; GONÇALVES, 2011; VERARDI et al., 2014)

O coeficiente de variação experimental ( $CV_e \%$ ) apresentou valores abaixo de 25% em quase todos os caracteres avaliados variando de 5 a 23%, com exceção para PBS. Valores de coeficiente de variação experimental na ordem de 10% a 20% podem ser considerados baixos para experimentos onde ocorre competição entre plantas (PIMENTEL-GOMES; GARCIA, 2002). Os baixos valores  $CV_e \%$  indicam que houve uma adequada uniformidade na coleta dos dados, o que diminui o erro experimental levando a resultados mais precisos. Embora o  $CV_e \%$  para PBS para as duas populações do estudo tenham apresentado elevada magnitude (36 e 44% para PM e PS respectivamente), vários autores também apresentaram situação semelhante ou superior ao encontrado no trabalho (COSTA et al., 2000). Segundo o mesmo autor o  $CV_e \%$  para o caráter PBS indica que a coleta desse dado está sujeita a erros experimentais de controle relativamente difícil e expressa propriedades intrínsecas do caráter.

Os valores do coeficiente de variação relativa ( $CV_r$ ) foram maiores que 0,45 para todos os caracteres avaliados na PS e para os caracteres DMC, P50, PAP e PBS, para a PM. Segundo Vencovsky e Barriga (1992), quanto maior o valor do  $CV_r$  (alta magnitude), maior o controle genético dos caracteres e pouco influenciado por fatores ambientais, portando, caracteres, comumente escolhidos, com melhores perspectivas, para obtenção de ganhos expressivos na seleção. No presente trabalho os caracteres com maior magnitude de  $CV_r$  foram PBS (1,21) e PAP (0,98) para PM e PS respectivamente, que serviram como objeto de seleção pelo índice multiefeitos no próximo item do estudo.

O delineamento experimental apresentou-se favorável, pois não prevaleceu a heterogeneidade ambiental dentro de blocos, com o coeficiente de determinação dos efeitos de parcela ( $\hat{C}_p^2$ ) com baixas magnitudes (0,2 a 8%). Caracteres que apresentaram  $\hat{C}_p^2$ , um pouco

maiores foram devido a valores maiores de variância residual, como para os caracteres ALT (16%), AC (12%) para população melhorada e ALT (13%), PBS (28%) para a população selvagem. De acordo com Kubota et al., 2015, valores maiores que 10% indicam que houve heterogeneidade ambiental dentro das parcelas. Recomenda-se, nesse caso, a diminuição do número de plantas por parcela e o aumento dos blocos, assim modificando o arranjo do delineamento experimental, poderia minimizar os erros, consequentemente diminuindo o valor do  $\hat{C}_p^2$ .

Os valores de acurácia ( $\hat{r}_{aa}$ ) apresentaram-se expressivos, segundo a classificação de Resende e Duarte (2007), onde as classes de acurácias são obtidas como muito alta com estimativas de 0,90 a 0,99, alta de 0,70 a 0,85, moderada de 0,50 a 0,65 e baixa de 0,10 a 0,40, refletindo que os valores estimados estão próximos aos valores genéticos reais. A população selvagem apresentou acurácias de altas magnitudes (0,68 a 0,86). Já a PM apresentou acurácias de moderadas a altas magnitudes (0,53 a 0,92).

Tabela 3 - Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres, altura comercial (AC), altura (ALT), diâmetro médio da copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP), produção de borracha seca (PBS), perímetro do caule a 50 cm do solo (P50) e média geral em progênie de seringueira, população melhorada aos oito anos, em Selvíria, MS.

Estimativas <sup>1</sup>	AC (m)	ALT (m)	DMC (m)	FOR	P50 (cm)	PAP (cm)	PBS (g)
$\hat{\sigma}_a^2$	1,2184	1,1961	0,3468	0,0344	73,0322	38,6370	47478,6828
$\hat{\sigma}_c^2$	1,7896	1,2701	0,0123	0,0128	0,6130	0,3818	2359,6349
$\hat{\sigma}_e^2$	11,7873	5,4047	1,0052	0,5686	159,4537	115,7572	22033,0471
$\hat{\sigma}_f^2$	14,7953	7,8709	1,3644	0,6159	233,0989	154,7769	71871,3647
$\hat{h}_a^2$	0,08±0,05	0,15±0,07	0,25±0,09	0,06±0,04	0,31±0,10	0,25±0,09	0,66±0,21
$\hat{h}_{aj}^2$	0,09	0,18	0,26	0,06	0,31	0,25	0,68
$\hat{C}_p^2$	0,1210	0,1614	0,0090	0,0208	0,0026	0,0025	0,0328
$\hat{h}_m^2$	0,28	0,39	0,71	0,32	0,77	0,72	0,85
$\hat{r}_{aa}$	0,53	0,62	0,85	0,57	0,88	0,85	0,92
$\hat{h}_{ad}^2$	0,07	0,14	0,21	0,04	0,26	0,20	0,62
$CV_{gi}(\%)$	14,59	7,10	12,41	4,99	14,27	13,48	88,32
$CV_{gp}(\%)$	7,29	3,55	6,20	2,50	7,14	6,74	44,16
$CV_e(\%)$	23,12	8,95	7,85	7,23	7,84	8,36	36,53
$CV_r$	0,32	0,40	0,79	0,34	0,91	0,81	1,21
$\hat{m}$	7,57	15,39	4,75	3,71	59,88	46,12	246,73
LRT ( $\chi^2$ )	1,15 <sup>ns</sup>	2,63 <sup>ns</sup>	15,86**	1,34 <sup>ns</sup>	28,25**	22,32**	16,94**

<sup>1</sup>  $\hat{\sigma}_a^2$ : variância genética aditiva;  $\hat{\sigma}_c^2$ : variância ambiental entre parcelas;  $\hat{\sigma}_e^2$ : variância residual ( ambiental + não aditiva);  $\hat{\sigma}_f^2$ : variância fenotípica individual;  $\hat{h}_a^2$ : herdabilidade individual no sentido restrito;  $\hat{h}_{aj}^2$ : herdabilidade individual no sentido restrito, ajustadas para os efeitos da parcela;  $\hat{C}_p^2$ : coeficiente de determinação entre parcelas;  $\hat{h}_m^2$ : herdabilidade média de progênie;  $\hat{r}_{aa}$ : acurácia;  $\hat{h}_{ad}^2$ : herdabilidade aditiva dentro de parcela;  $CV_{gi}$ : coeficiente de variação genética individual;  $CV_{gp}$ : coeficiente de variação genotípica entre progênie;  $CV_e$ : coeficiente de variação experimental dentro de parcelas;  $CV_r$ : coeficiente de variação residual;  $\hat{m}$ : média geral. \*\*( $\chi^2$ ) significativo em 1%(6,63), <sup>ns</sup> não significativo.

Fonte: Dados da própria autora

Tabela 4 - Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres, altura comercial (AC), altura (ALT), diâmetro médio da copa (DMC), forma do fuste (FOR), perímetro do caule a 1,30 m do solo (PAP), produção de borracha seca (PBS), perímetro do caule a 50 cm do solo (P50) e média geral em progênies de seringueira, população selvagem, aos 23 anos, em Selvíria, MS

Estimativas <sup>(1)</sup>	AC (m)	ALT (m)	DMC (m)	FOR	P50 (cm)	PAP (cm)	PBS(g)
$\hat{\sigma}_a^2$	3,4583	5,9972	1,5951	0,0945	296,1368	412,7845	17806,1270
$\hat{\sigma}_c^2$	0,1040	1,8015	0,2500	0,0133	46,1065	55,1141	13096,0628
$\hat{\sigma}_e^2$	14,1503	6,1328	1,5742	0,2593	408,2421	215,1872	15135,2073
$\hat{\sigma}_f^2$	17,7126	13,9315	3,4194	0,3672	750,4853	683,0858	46037,3971
$\hat{h}_a^2$	0,20 ± 0,12	0,43 ± 0,18	0,47 ± 0,19	0,26 ± 0,14	0,39 ± 0,17	0,60 ± 0,21	0,39 ± 0,27
$\hat{h}_{aj}^2$	0,20	0,49	0,50	0,27	0,42	0,66	0,54
$\hat{C}_p^2$	0,0059	0,1293	0,0731	0,0363	0,0614	0,0807	0,2845
$\hat{h}_m^2$	0,60	0,61	0,69	0,60	0,67	0,74	0,46
$\hat{r}_{aa}$	0,77	0,78	0,83	0,78	0,82	0,86	0,68
$\hat{h}_{ad}^2$	0,15	0,42	0,43	0,21	0,35	0,59	0,47
$CV_{gi}$ (%)	24,93	13,09	21,27	7,69	18,22	26,48	47,25
$CV_{gp}$ (%)	12,46	6,54	10,64	3,85	9,11	13,24	23,63
$CV_e$ (%)	17,88	9,05	12,23	5,39	11,06	13,52	44,71
$CV_r$	0,70	0,72	0,87	0,71	0,82	0,98	0,53
$\hat{m}$	7,46	18,71	5,94	3,99	94,43	76,73	282,40
LRT ( $\chi^2$ )	3,22 <sup>ns</sup>	4,83*	6,81**	2,97 <sup>ns</sup>	5,54*	10,64**	0,89 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>  $\hat{\sigma}_a^2$ : variância genética aditiva;  $\hat{\sigma}_c^2$ : variância ambiental entre parcelas;  $\hat{\sigma}_e^2$ : variância residual ( ambiental + não aditiva);  $\hat{\sigma}_f^2$ : variância fenotípica individual;  $\hat{h}_a^2$ : herdabilidade individual no sentido restrito;  $\hat{h}_{aj}^2$ : herdabilidade individual no sentido restrito, ajustadas para os efeitos da parcela;  $\hat{C}_p^2$ : coeficiente de determinação entre parcelas;  $\hat{h}_m^2$ : herdabilidade média de progênie;  $\hat{r}_{aa}$ : acurácia;  $\hat{h}_{ad}^2$ : herdabilidade aditiva dentro de parcela;  $CV_{gi}$ : coeficiente de variação genética individual;  $CV_{gp}$ : coeficiente de variação genotípica entre progênies;  $CV_e$ : coeficiente de variação experimental dentro de parcelas;  $CV_r$ : coeficiente de variação residual;  $\hat{m}$ : média geral. \*( $\chi^2$ ) significativo em 5% (3,84); \*\*( $\chi^2$ ) significativo em 1% (6,63), <sup>ns</sup> não significativo. Fonte: Dados da própria autora

#### 4.4.2 Predição de ganhos na seleção, tamanho efetivo e diversidade genética

O Índice Multiefeitos (IME) foi empregado para realizar seleção nas duas populações *H. brasiliensis*, PM e PS aos oito e 23 anos após a instalação, respectivamente. O caráter PBS

teve o maior valor de coeficiente de variação relativa ( $CV_r=1,21$ ) para a população melhorada (Tabela 3) e o caráter PAP teve o maior valor de coeficiente de variação relativa ( $CV_r=0,98$ ) para a PS (Tabela 4) na avaliação realizada. Portanto, estes foram os caracteres empregados como objeto de seleção. Foi empregada intensidade de seleção entre progênies de 50% para os melhores indivíduos, com base na classificação feita pelos BLUPs, em ordem decrescente, na análise feita no *software* SELEGEN, para as duas populações de estudo, resultando em 233 indivíduos para a PM e 408 para PS, (Tabelas A3 e A4, respectivamente). Para a PM, dentro de famílias foi utilizada a intensidade de 40%, e para PS a intensidade foi de 22%, representando para ambas as populações 12 indivíduos por família.

Nas Tabelas 5 e 6 estão representadas as estimativas referentes aos seguintes parâmetros:  $\hat{a}$ : efeito genético aditivo = IME: Índice Multiefeito;  $\hat{G}_s$ : Ganho na seleção;  $Ef$ : eficiência do IME em relação à seleção entre e dentro de progênies e a  $\hat{D}$ : Diversidade genética para a população, para PM e PS, respectivamente.

Para a população melhorada, conforme a estratégia aplicada selecionando os 233 melhores indivíduos e com  $k_f$  fixo de 12 plantas por progênies, possibilitando uma eficiência na seleção ( $Ef$ ) foi de 94% para os melhores 233 indivíduos. Que gerou um  $\hat{G}_s$  de 51% e 54%, para primeira e segunda estratégia, respectivamente. Valores estes que ficaram aquém aos encontrados por Arantes et al. (2010) que obtiveram ganhos superiores na seleção com a mesma população de 68%. Verardi et al. (2014), comparando vários métodos de seleção, encontraram superioridade pelo IME, com ganhos acima de 100% para produção de borracha seca, em todos os anos em vários locais estudados, para seringueira.

O tamanho efetivo populacional  $N_e$ , correspondeu de 69 e 99 para seleção individual e entre e dentro de famílias, respectivamente. A seleção entre e dentro mostrou-se favorável em relação a seleção individual pois garante a diversidade em 100%, mantendo todas as famílias na seleção, já que para seleção individual perde-se duas famílias (RO-I 35, Pind 595/89). Mesmo porque a intensidade de seleção aplicada é menor na seleção entre e dentro para o estudo de 40%. Deve haver um cuidado na utilização de altas intensidades de seleção por ser uma estratégia arriscada em um programa de melhoramento genético. Uma seleção de indivíduos intensa para um caráter de alta herdabilidade deve ser vista com cautela, pois essa prática poderá levar a eliminação ou perda precoce de alelos responsáveis por outros caracteres (KAGEYAMA; VENCOVSKY, 1983). Principalmente se a população tiver baixas herdabilidades, o ganho será pouco expressivo, como ocorreu nos estudos Kubota et al. (2015) com aplicação de intensidade de seleção de 60% .

Costa et al. (2016) obtiveram o mesmo resultado pelo IME, com diferentes métodos de seleção para *Eucalyptus benthamii* concluindo que seleção entre e dentro é o método mais indicado por apresentar elevados ganhos e manter o tamanho efetivo populacional e boa diversidade genética para futuros ciclos de seleção.

A diversidade genética para as populações após a primeira seleção apresentou valores expressivos de 0,73 e 0,82 para PM e PS, respectivamente. Apesar da PS apresentar uma diversidade genética maior, a PM também apresentou um valor expressivo, apesar das matrizes serem de natureza clonal, ainda há grande variabilidade genética entre as progênies.

Para a PS ocorreram ganhos na seleção menos expressivos de ( $\hat{G}_s=0,46\%$  a  $3,68\%$ ), mesmo assim, gerou uma eficiência na seleção  $Ef.$ , de 12%. Entretanto tal estratégia conservou maior tamanho efetivo populacional  $N_e$ , para população selvagem, variando de 98 para 118 de uma seleção para outra, do que no caso de PM (69 para 99). Contudo, considerando a situação desuniformidade da população selvagem a seleção individual seria a mais realista a ser adotada *a priori*.

Para a população selvagem apenas foi realizada uma simulação, para predições para possíveis acessos do material genético no futuro, como formações de pomar de sementes, no uso do melhoramento. Já que a população trata-se de pés-francos, naturais do Acre, ou seja, tendo uma grande importância para banco de germoplasma e conservação *ex situ*. As mesmas apresentam 55% de sobrevivência. Dessa forma, foi proposital aplicar 50% de intensidade na seleção para que se encontrasse o máximo de indivíduos possíveis. Mesmo assim, foi possível obter um discreto ganho na seleção.

Segundo Resende e Fernandes (1999) o método do índice multifeito é um procedimento ótimo de seleção, equivalendo ao procedimento BLUP (melhor predição linear não-viciada) para o caso em que os dados são balanceados ou a sobrevivência é superior a 85%. O que podem apresentar em parte, menores ganhos na seleção para a PS, pois apresentam 55% de sobrevivência. Por isso também a estratégia adotada inicialmente foi proposital, visando à conservação do material genético.

Tabela 5 - Seleção pelo Índice Multiefeitos (IME), para o caráter produção de borracha seca (g), da população melhorada de *H. brasiliensis*, avaliado aos oito anos após instalação em Selvíria, MS

População melhorada							
$k_f = \forall$				$k_f = 12$			
Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$
RRIM 600	9	ROI 35	0	RRIM 600	12	ROI 35	12
IAC 40	9	IAN 873	13	IAC 40	12	IAN 873	12
IAC 41	8	IAC 44	7	IAC 41	12	IAC 44	12
64B 850	3	PR 261	9	64B 850	12	PR 261	12
PB 260	8	PB 217	14	PB 260	12	PB 217	12
PB 252	9	GT1	14	PB 252	12	GT1	12
IRCA 111	12	PB 330	4	IRCA 111	12	PB 330	12
RRIM 606	5	FX 3864	1	RRIM 606	12	FX 3864	12
RRIM 701	14	MT 45	1	RRIM 701	12	MT 45	12
IAC 15	5	FX 2261	3	IAC 15	12	FX 2261	12
PB 28/59	14	1-1-56-77	2	PB 28/59	12	1-1-56-77	12
IAC 311	4	Pind 595/89	0	IAC 311	12	Pind 595/89	12
IAC 301	11	IAC 35	15	IAC 301	12	IAC 35	12
RO-I 110	5	PB 235	13	RO-I 110	12	PB 235	12
IAC 307	4	RRIM 725	9	IAC 307	12	RRIM 725	12
PR 255	8	-	-	PR 255	12	-	-
$N$		233		$N$		372	
$N_{fo}$		31		$N_{fo}$		31	
$N_f$		29		$N_f$		31	
$\bar{k}_f$		8,03		$\bar{k}_f$		12	
$N_e$		69,53		$N_e$		99,20	
$\hat{\sigma}_{kf}^2$		19,03		$\hat{\sigma}_{kf}^2$		0	
$\mu$ (g)		246,73		$\mu$ (g)		246,73	
$\hat{a}$ (g)		126,22		$\hat{a}$ (g)		133,70	
$\hat{G}_s$ (%)		51,16		$\hat{G}_s$ (%)		54,19	
$Ef.$ (%)		94,41		$Ef.$ (%)		100	
$\hat{D}$		0,73		$\hat{D}$		1,00	

$N$ : número de indivíduos selecionados;  $N_{fo}$ : número de famílias da população original;  $N_f$ : número de famílias selecionadas;  $k_f$ : número de indivíduos selecionados por família;  $\bar{k}_f$ : número médio de indivíduos selecionados por família;  $N_e$ : tamanho efetivo populacional;  $\hat{\sigma}_{kf}^2$ : variância de indivíduos selecionados por família;  $\mu$ : média geral;  $\hat{a}$ : efeito genético aditivo = IME: Índice Multiefeitos;  $\hat{G}_s$ : Ganho na seleção;  $Ef.$ : eficiência do IME em relação à seleção nos 233 indivíduos;  $\hat{D}$ : Diversidade genética.

Fonte: Dados da própria autora

Tabela 6 - Seleção pelo Índice Multiefeitos (IME), para o caráter perímetro a 1,30m do solo (cm), avaliado aos 23 anos após instalação da população selvagem de *Hevea brasiliensis* em Selvíria, MS

População selvagem							
$k_f = \forall$				$k_f = 12$			
Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$	Progênie	$k_f$
1	12	20	3	1	12	20	12
2	13	21	10	2	12	21	12
3	19	22	9	3	12	22	12
4	19	23	2	4	12	23	12
5	13	24	6	5	12	24	12
6	25	25	12	6	12	25	12
7	19	26	9	7	12	26	12
8	13	27	7	8	12	27	12
9	7	28	12	9	12	28	12
10	10	29	7	10	12	29	12
11	17	30	10	11	12	30	12
12	14	31	6	12	12	31	12
13	13	32	10	13	12	32	12
14	11	33	5	14	12	33	12
15	11	34	3	15	12	34	12
16	20	35	7	16	12	35	12
17	16	36	6	17	12	36	12
18	14	37	5	18	12	37	12
19	13	-	-	19	12	-	-
$N$		408	$N$		444		
$N_{fo}$		37	$N_{fo}$		37		
$N_f$		37	$N_f$		37		
$\bar{k}_f$		11,03	$\bar{k}_f$		12		
$N_e$		98,59	$N_e$		118,4		
$\hat{\sigma}_{kf}^2$		27,86	$\hat{\sigma}_{kf}^2$		0		
$\mu$ (cm)		76,73	$\mu$ (cm)		76,73		
$\hat{a}$ (cm)		0,35	$\hat{a}$ (cm)		2,82		
$\hat{G}_s$ (%)		0,46	$\hat{G}_s$ (%)		3,68		
$Ef.$		12,54	$Ef.$ (%)		100		
$\hat{D}$		0,82	$\hat{D}$		1		

$N$ : número de indivíduos selecionados;  $N_{fo}$ : número de famílias da população original;  $N_f$ : número de famílias selecionadas;  $k_f$ : número de indivíduos selecionados por família;  $\bar{k}_f$ : número médio de indivíduos selecionados por família;  $N_e$ : tamanho efetivo populacional;  $\hat{\sigma}_{kf}^2$ : variância de indivíduos selecionados por família;  $\mu$ : média geral;  $\hat{a}$ : efeito genético aditivo = IME: Índice Multiefeitos;  $\hat{G}_s$ : Ganho na seleção;  $Ef.$ : eficiência do IME em relação à seleção nos 408 indivíduos;  $\hat{D}$ : Diversidade genética.

Fonte: Dados da própria autora

Kageyama et al. (2002) encontraram ganhos médios preditos surpreendentes para populações naturais de *H. brasiliensis*, no Acre, para produção de borracha seca, com seleção por valores genéticos individuais de 66%. Predições importantes porque, segundo os mesmos autores, há uma baixa produção de látex nos seringais nativos do Acre que resulta da heterogeneidade das árvores, uma vez que algumas poucas produzem alta quantidade de látex e a grande maioria produz pouco, promovendo um baixo rendimento. Por isso a necessidade de clones, que em contrapartida são mais suscetíveis ao *M. ulei*.

Vários métodos de seleção podem ser utilizados. Cabe ao melhorista verificar quais atendem as suas demandas de curto, médio e longo prazo. Pode-se ainda utilizar métodos de melhoramento para cada uma das etapas de um programa de melhoramento como o aumentando da intensidade de seleção, obtendo maiores ganhos no curto prazo ou diminuindo a intensidade de seleção com intuito de garantir os ganhos ao longo do tempo (COSTA et al., 2016).

#### 4.5 CONCLUSÕES

1. Há variabilidade genética entre as duas populações e dentro de progênies, indicando que apresentam potencial para participarem de futuros programas de melhoramento.
2. O caráter utilizado na seleção foi o perímetro a 1,30 do solo e a produção de borracha seca, para PS e PM, respectivamente. Sendo mais desejável para o melhoramento de seringueira os dois caracteres.
3. Os ganhos na seleção foram de 54% e 0,46% para PS e PM, respectivamente, conforme a estratégia adotada.
4. As intensidades aplicadas na seleção foram adequadas para as duas populações, garantindo ganhos na seleção e mantendo a diversidade genética.
5. Para população melhorada é mais indicado a estratégia de seleção entre e dentro, para PS é indicado a seleção individual
6. A estratégia de seleção garantiu ganhos e ainda manteve-se adequada para conservação *ex situ* da PS, não descartando a possível seleção para programas de melhoramento futuros.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. T. E.; BRANCALIÃO, S. R.; ROSSI, C. E. Avaliação do desempenho inicial de progênies de seringueira. **Nucleus**, Ituverava, v. 9, n. 1, p. 115-122, 2012.
- ALEM, H. M.; GOUVÊA, L. R. L.; SILVA, G. A. P.; OLIVEIRA, A. L. B.; GONÇALVES, P. S. Avaliação de clones de seringueira para a região noroeste do Estado de São Paulo. **Ceres**, Viçosa, MG, v. 62, n. 5, p. 430-437, 2015.
- ARANTES, F. C.; GONÇALVES, P. S.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MORAES, M. L. T.; RESENDE, M. D. V. Ganho genético com base no tamanho efetivo populacional de progênies de seringueira **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 12, p. 1419-1424, 2010.
- COSTA, R. M. L.; ESTOPA, R. A.; BIERNASKI, F. A.; MORI, E. S. Predição de ganhos genéticos em progênies de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage por diferentes métodos de seleção. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 44, n. 109, p. 105-113, 2016.
- COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; ARAUJO, A. J.; GONÇALVES, P. S.; BORTOLETTO, N. Seleção combinada univariada e multivariada aplicada ao melhoramento genético da seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p. 381-388, 2000.
- COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; GONÇALVES, P. S.; OLIVEIRA, L. C. S.; ÍTAVO, L. C. V.; ROA, R. A. R. Seleção simultânea para porte reduzido e alta produção de látex em seringueira. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 649-654, 2008.
- COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; GONÇALVES, P. S.; ROA, R. A. R.; FEITOSA, K. C. O. Predição de parâmetros e valores genéticos para caracteres de crescimento e produção de látex em progênies de seringueira. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 49-56, 2010.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – Embrapa. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa/CNPSO, 1999. 412 p.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 1987. 279 p.
- FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M.; MORAIS, E.; ZANATTO, A. C. S.; VERARDI, C. K.; PINHEIRO, A. N. Parâmetros genéticos em progênies de polinização aberta de *Cordia trichotoma* (Vell.) ex Steud. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 18, p. 95-102, 2006.
- FREITAS, R. G.; VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; ROSADO, A. M.; ROCHA, R. B.; TAKAMI, L. K. Predição de ganhos genéticos em progênies de polinização aberta de *Eucalyptus urograndis* cultivadas em diferentes ambientes e submetidas a diferentes procedimentos de seleção. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 2, p. 25-263, 2009.

GONÇALVES, P. S.; BATAGLIA, O. C.; ORTOLONI, A. A.; FONSECA, F. S. Manual de heveicultura para o Estado de São Paulo. Campinas: IAC, 2001. 78 p. (Boletim Técnico IAC, 189).

GONÇALVES, P. S.; BORTOLLETO, N.; CARDINAL, A. B. B.; GOUVÊA, L. R. L.; COSTA, R. B.; MORAES, M. L. T. Age-age correlation for early selection of rubber tree genotypes in São Paulo, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 758-764, 2005.

GONÇALVES, P. S. Melhoramento genético da seringueira: métodos formais e moleculares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 237, p. 95-104, 2007.

GONÇALVES, P. S.; SILVA, M. A.; GOUVÊA, L. R. L.; SCALOPPI JUNIOR, E. J. Genetic variability for girth growth and rubber yield in *Hevea brasiliensis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3 p. 246–254, 2006.

GOUVÊA, L. R. L. **Diversidade genética em seringueira estimadas através de técnicas multivariadas e marcadores moleculares microssatélites**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2009.

HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, 1995. 45 p. (Série Irrigação, 1).

KAGEYAMA, P. Y.; KRUGNER, T. L.; MORA, A. L.; BERTOLOTI, G.; GAIAD, S. Avaliação de progênies de árvores superiores de *Eucalyptus grandis* (nota prévia). Piracicaba: IPEF, 1979. 9 p. (Circular Técnica, 80). Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica/nr080.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2017.

KAGEYAMA, P. Y.; OLIVEIRA, R. S.; FERRAZ, P. A.; FURTADO, E. L.; SOUZA, A. D.; SEBBENN, A. M. Ganhos na seleção para a produtividade de látex em população natural de *Hevea brasiliensis* na Reserva Chico Mendes: estudo de caso das IAPs (Ilhas de alta produtividade). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 61, p. 79-85, 2002.

KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. **IPEF**, Piracicaba, v. 24, p. 9-26, 1983.

KUBOTA, T. Y. K.; MORAES, M. A.; SILVA, E. C. B.; PUPIN, S.; AGUIAR, A. V.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SATO, A. S.; MACHADO, J. A. R.; SEBBENN, A. M. Variabilidade genética para caracteres silviculturais em progênies de polinização aberta de *Balfourodendron riedelianum* (Engler). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 106, p. 407-415, 2015.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C. **Cultura da seringueira no cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. 59 p.

PAIVA, J. R.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. CONTEL, P. B. Genetics of rubber tree (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Müll. Arg.) I. Genetic Variation in Natural Populations. **Silvae Genetica**, Piracicaba, v. 43, n. 5/6, p. 307-312, 1994.

PAIVA, J. R. **Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex ADR. de Juss.) Müell. Arg.)**. 1992. 145 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

RESENDE, M. D. V. Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 19, n. 4, p. 479-500, 1995.

RESENDE, M. D. V.; FERNANDES, J. S. C. Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. **Revista de Matemática e Estatística**, Marília, v. 17, p. 87-109, 1999.

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

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Maximização da eficiência da seleção em testes de progênies de *Eucalyptus* através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 28/29, p. 37-55, 1994.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007a. 561 p.

RESENDE, M. D. V. **Métodos estatísticos ótimos na análise de experimentos de campo**. Colombo: Embrapa Floresta, 2004. V. 1, 57 p.

RESENDE, M. D. V. **SELEGEN-REML/BLUP**: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Colombo: Embrapa Florestas, 2007b. 359 p.

SANTOS, F. W.; MORAES, M. L. T.; FLORSHEIM, S. M. B.; LIMA, I. L.; SILVA, J. M.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Variação genética para caracteres anatômicos e retração volumétrica e sua correlação com a densidade básica da madeira em uma população base de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 159-170, 2010.

SEBBENN, A. M. et al. Variação genética em progênies de meios-irmãos de *Pinus caribaea* Mor. var. *bahamensis* Bar. et Gol. na Região de Bebedouro-SP. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v. 6, p. 63-73, 1994.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1975.

SILVA, G. A. P.; GOUVÊA, L. R. L.; VERARDI, C. K.; RESENDE, M. D. V.; SCALOPPI JUNIOR, J. E.; GONÇALVES, P. S. Parâmetros genéticos e da correlação em ciclos de medição início em seringueiras. **Euphytica**, Dordrecht, n. 189, p. 625-634, 2012.

SILVA, J. M.; AGUIAR, A. V.; MORI, E. S.; MORAES, M. L. T. Variação Genética e ganho esperado na seleção de progênies de *Pinus caribaea* var. *caribaea* em Selvíria, MS. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 90, p. 241-252, 2011.

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

VENCOSVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.

VERARDI, C. K.; OLIVEIRA, A. L. B.; SILVA, G. A. P.; GOUVÊA, L. R. L.; GONÇALVES, P. S. Comparison between different selection methods of rubber trees. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, n. 52, p. 255– 263, 2014.

VERARDI, C. K.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; SILVA, G. A. P.; GOUVÊA, L. R. L.; GONÇALVES, P. S. Genetic parameters and estimated genetic gains in young rubber tree progênies. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 48, n. 4, p. 411-416, 2013.

WEI, R. P.; LINDGREN, D. Effective family number following selection with restrictions. **Biometrics**, Washington, v. 52, n. 1, p. 198-208, 1996.

## 5 CAPÍTULO II

**Diversidade genética e sistema de reprodução em duas populações de seringueira, com diferentes níveis de melhoramento genético**



## RESUMO

Com base em parâmetros genéticos obtidos na análise molecular de locos microssatélites (SSR), este trabalho teve por objetivo verificar o sistema de reprodução em amostras de progênies de polinização aberta de duas populações de *Hevea brasiliensis*, utilizando sete locos microssatélites. A primeira população do estudo é originária da floresta primária de Rio Branco- Acre (população selvagem-PS), e a outra, trata-se de uma população, originada de matrizes clonais (população melhorada-PM). Encontram-se instaladas na forma de teste de progênies na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), localizada em Selvíria, MS. O DNA genômico foi extraído, quantificado e genotipado para as duas populações de estudo. As análises do sistema de reprodução e diversidade foram baseadas no modelo misto de reprodução e modelo de cruzamentos correlacionados. A heterozigosidade observada foi de 0,839 e 0,747 para adultos e de 0,425 e 0,399 para as progênies, para PM e PS. A taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) variou de 0,726 (PM) a 0,798 (PS), indicando que grande parte das sementes foram originadas por cruzamentos, mas houve presença de autofecundação, caracterizado por um sistema de reprodução misto. A endogamia apresentada foi gerada por cruzamentos correlacionados e não por autofecundação. Devido ao tamanho efetivo de ( $N_e$ ) menor que quatro resultou na necessidade de coletar-se sementes para fins de conservação genética, recuperação ambiental e melhoramento florestal de pelo menos 94 e 89 árvores, para PM e PS respectivamente.

**Palavras-Chave:** Marcadores SSR. *Hevea brasiliensis*. Sistema de reprodução. Diversidade genética.

## ABSTRACT

Based on genetic parameters obtained in the molecular analysis of microsatellite loci (SSR), this study aimed to investigate the mating system in samples of open-pollinated progenies of two populations of *Hevea brasiliensis* using seven microsatellite loci. The first population of the study originated in the primary forest of Rio Branco-Acre (wild population-PS), and the other population is a population originated from clonal matrices (improved population-PM). They are installed as progeny tests at the Teaching, Research and Extension Farm, That belongs to Engeneering College of the Julio Mesquita Filho State University of São Paulo, In Selvira, State of South Mato Grosso Brazil. Genomic DNA was extracted, quantified and genotyped for the two study populations. The analysis of reproduction and diversity system were based on the mixed mating model and model correlated crosses. The observed heterozygosity ranged from (0,839 and 0,747) and for adults (0,425 and 0,399) for progenies PM and PS. The multilocus crossing rate ( $t_m$ ) ranged from 0,726 (PM) to 0,798 (PS), indicating that most of the seeds were derived by crossing, but there was the presence of selfing, characterized by a reproduction system. Inbreeding presented was generated by correlated crosses and not by self-fertilization. Due to  $N_e$ , less than 4, resulted in the need to collect seed for genetic conservation, environmental recovery and forest improvement of at least 94 and trees 89, for PM and PS respectively.

**Keywords:** SSR markers. *Hevea brasiliensis*. Mating system. Genetic diversity.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A conservação e o melhoramento genético de uma espécie requerem o conhecimento de seu sistema de reprodução, variabilidade e estrutura genética (GIUDICE NETO; SEBBENN; KAGEYAMA, 2004). Sebbenn (2006) complementa que o conhecimento do sistema de reprodução de populações de espécies arbóreas, mais especificamente da taxa de cruzamento, taxa de cruzamento entre parentes e correlação de paternidade é fundamental em programas de melhoramento genético, conservação genética e recuperação ambiental, visto que este determina o parentesco, a endogamia e, portanto o tamanho efetivo das progênes.

Um ponto importante a ser conhecido é a forma como as espécies recombina seus genes a cada evento reprodutivo e formam as populações descendentes. Tais informações são de fundamental importância para o delineamento de estratégias para a conservação e uso dessas espécies, permitindo realizar previsões mais realistas sobre tamanhos amostrais para a conservação genética, bem como adotar estratégias mais eficientes de seleção, baseadas no conhecimento da coancestria média ( $\theta_{xy}$ ) entre plantas dentro de progênes de polinização aberta (MORI et al., 2013).

O sistema de reprodução das espécies arbóreas tropicais geralmente é caracterizado como misto associado às complexas interações com agentes polinizadores e dispersores de sementes, com predomínio de cruzamentos (BAWA, 1974). Segundo Hamrick e Godt (1989) a reprodução sexual, ainda, pode ocorrer por meio de cruzamentos aleatórios, cruzamentos correlacionados (acasalamento sucessivos entre dois indivíduos, resultando em irmãos-completos), o acasalamento entre parentes, autofecundação ou quaisquer suas combinações e também a reprodução pode ocorrer ocasionalmente por apomixia (BICKNELL; KOLTUNOW, 2004). Tais espécies apresentam geralmente baixa densidade populacional e dependem de animais para a dispersão de pólen e/ou sementes. Suas reproduções são geralmente por fecundação cruzada (BAWA, 1974).

Atualmente, uma série de poderosas técnicas de genética molecular, com base na reação em cadeia da polimerase (PCR), estão disponíveis para o estudo da diversidade genética e da estrutura, sistemas de reprodução e fluxo gênico (WHITE; POWELL 1997). Isso corrobora com Chin et al. (1996) em que, marcadores moleculares provaram ser útil na estimativa de diversidade genética em uma ampla gama de espécies e populações. Entre marcadores moleculares, os microssatélites ou SSRs (Simple Sequence Repeats) têm recebido atenção especial. Estes, além de serem codominantes e multi-alélicos, são amplamente distribuídos por todo o genoma e, portanto, podem ser altamente polimórficos.

Por isso, estão entre os melhores marcadores moleculares para o estudo de uma população de diversidade genética, devido ao maior nível de informação eles produzem (CHASE; KESSELI; BAWA, 1996; ECHT et al., 1996; FERREIRA; GRATAPAGLIA, 1998; GOUVÊA et al., 2009; MANOEL et al., 2012; SOUZA et al., 2015; SPOLADORE et al., 2016; VIERA et al., 2016).

A seringueira é uma espécie típica de matas úmidas, várzeas e matas ciliares, podendo ocorrer também em matas de terra firme. Seu principal habitó é arbóreo, que pode variar de altura de mediana (entre 7 e 10 m) a muito grande, atingindo 15 a 50 m de altura, o DAP pode variar de 35 cm a 1,88 m (SECCO, 2008). A seringueira é considerada uma espécie de baixa densidade na floresta. No Acre, ocorrem apenas 0,7 a 3 indivíduos por hectare (SCHROTH et al., 2003).

As inflorescências apresentam-se em panículas, ao longo de brotos terminais, ou no ápice de ramos curtos. As flores são de coloração clara, de tonalidade amarelada, unissexuais (díclinas), monoclamídeas (só apresentam cálice), ausência de corola, monoica (flores masculinas estaminas e femininas pistiladas ocorrem na mesma inflorescência). As estaminadas são sempre em maior número do que as pistiladas (1:60), ou seja, uma flor feminina para 60 flores masculinas, que ficam na extremidade do eixo principal ou no ápice dos ramos maiores da inflorescência (BOUYCHOU, 1969; SECCO, 2008; GONÇAVES; FONTES, 2009). O florescimento ocorre em meados de abril a julho na Amazônia, porém ocorre em dois períodos na Malásia, entre março e abril e agosto e setembro (PARAJONTHY, 1980). Cuco e Bandel (1998) também observaram, cerca de 71,49%, de hermafroditismo, em 1.217 flores de com morfologia externa feminina.

Os principais polinizadores naturais são os mosquitos da família Heleidae, identificados por estudos de Warmke (1951 e 1952). Outro polinizador também citado na literatura é o tripes (SOUZA et al., 2015).

A seringueira apresenta fecundação cruzada, podendo realizar autofecundação em um mesmo genótipo ou entre indivíduos do mesmo clone, sendo o grau de autofecundação variável de acordo com o genótipo (BOUYCHOU, 1969). Entretanto não existem estudos sistemáticos das frequências de polinização cruzada, o que se observado são frequentes plantas raquíticas, presumidamente de autofecundação (GONÇALVES; CARDOSO, 1987).

## 5.2 OBJETIVOS

Verificar o sistema de reprodução e diversidade em progênies de polinização aberta de duas populações de *Hevea brasiliensis*, pretendeu-se responder as seguintes questões:

- i) A diversidade genética de população selvagem (PS) é diferente da população melhorada?
- ii) As diferenças no nível de melhoramento das populações de estudo influenciam o sistema de reprodução das populações, aumentando a taxa de autofecundação ou de cruzamentos correlacionados?
- iii) Ocorre endogamia nas populações de estudo? Qual é a causa, autofecundação ou cruzamentos correlacionados?

## 5.3 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.3.1 Local de estudo

Os testes de progênies das populações encontram-se instalados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/UNESP (FEPE), localizada em Selvíria, MS (Figura 2). A localização geográfica aproximada da área do experimento está na latitude 20° 22' 01' S, longitude 51° 25' 08' W e 357 metros de altitude. O relevo é caracterizado como moderadamente plano e ondulado. O clima do local é do tipo Aw, pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 24,5° C, umidade média anual de 64,8%, precipitação média anual de 1232,2 mm e insolação média de 7,3 horas/dia (HERNANDEZ; LEMOS FILHO; BUZETTI, 1995). O solo local foi classificado segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 1999), como Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso, A moderado, hipidistrófico, álico, caulínítico, férrico, compactado, muito profundo, moderadamente ácido (LVd).

### 5.3.2 As populações de seringueira

A primeira população foi descrita por Paiva et al. (1994) é originária da floresta primária de Rio Branco-Acre, gerada por polinização aberta, caracterizada por não ser submetida a nenhum programa de melhoramento (PS, população selvagem). A segunda trata-se de uma população gerada por polinização aberta de matrizes clonais selecionadas: 1-12-56-

77, 64B 850, Fx (2261 e 3864), GT1, IAC (15, 35, 40, 41, 44, 301, 307 e 311.), IAN 873, IRCA 111, MT 45, PB (28/59, 217, 235, 252, 260 e 330), Pind 595/89, PR (255 e 261), RO-I (35 e 110), RRIM (600, 606, 701 e 725), procedentes do Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais, IAC (Instituto Agronômico). Portanto, faz parte de um programa de melhoramento em estagio avançado (PM, população melhorada). O teste de progênies da PS foi instalado em seis de dezembro de 1991, com espaçamento de 5 x 3 m, com delineamento experimental em blocos casualizados com 37 progênies distribuídas em três repetições, de forma desbalanceada com no máximo 10 plantas por progênies. A PM foi instalada como teste de progênies em cinco de setembro de 2006 no delineamento experimental de blocos casualizados, compostos por 31 tratamentos (progênies), quatro repetições e parcelas lineares de 10 plantas, no espaçamento de 3 x 3 m.

### 5.3.3 Amostragem

Para a PM foram selecionadas as 31 progênies presente no experimento, totalizando 20 indivíduos de cada família, com exceção de uma progênie que apresentou 17 indivíduos apenas, totalizando 617 indivíduos. Já para a PS foram selecionadas 30 progênies, com o máximo de indivíduos presentes, totalizando 386.

### 5.3.4 Extração de DNA

Para o estudo realizado com marcadores de microssatélites foi realizado o protocolo de extração de CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990), com modificações para *H. brasiliensis*. Foram utilizados 750 µl de tampão de extração (15 ml de Tris-HCL 1M Ph 8,0; 6 ml de EDTA 0,5M; 42 ml de NaCl 5M ; 3 g de CTAB, 6 g de PVP-40), acrescido de 2 µl de β- mercaptoetanol e 3 µl de proteinase K . As folhas jovens (150 mg) foram coletadas em campo, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria até o momento da extração. Para o procedimento de extração foram picotadas e colocadas em microtubos de 2,0 mL, em sequência maceradas com auxílio de pistilo e nitrogênio líquido. Em seguida foram adicionados 750 ul de tampão de extração e posteriormente homogeneizadas e mantidas em banho-maria a 65° C, por 45 minutos, sendo homogeneizadas a cada 10 minutos. O extrato foi misturado com 450 µl de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), sendo homogeneizada para a separação das fases orgânicas e aquosas. Após centrifugar por 10 minutos a 5.000 rpm, o sobrenadante foi coletado e 400 ul de isopropanol gelado, misturando gentilmente para precipitar os ácidos nucléicos, colocado em freezer a 10° C por 30 minutos. Em continuidade o extrato foi lavado em três etapas: duas etapas com etanol a 70%, descartando o

sobrenadante tendo cuidado para o *pellet* não se soltar e ser perdido, com 10.000 rpm a 10 minutos, e a com a última etapa com etanol absoluto com 12.000 rpm à 5 minutos. Os *pellets* foram colocados para secar em temperatura ambiente e em seguida foram ressuspensos em 45 µl tampão TE (TRIS 1 mM e EDTA 0,1 mM, pH 7,7) e em 6 µl de Rnase para serem incubados por 30 minutos a 37°C em banho Maria. Posteriormente as amostras foram armazenadas em freezer. Para verificação da qualidade do DNA, utilizou-se um minigel de agarose 0,8%, corado com GEL Red® em tampão TBE 1X (Tris-Boro-EDTA) por eletroforese em cuba horizontal. A quantidade do DNA foi visualizada e fotografada sob luz 87 ultravioleta, em transiluminador Loccus Biotecnologia®, modelo L-PIX-HE (Apendice-A5).

### 5.3.5 Genotipagem de DNA

A caracterização do DNA genômico foi feita com base em locos microssatélites que foram amplificados por PCR em um volume final de 12 µL, usando GoTaq® Colorless Master Mix, contendo 6,0 µL de GoTaq® Colorless Master Mix (2x), 0,8 µM de *primer* (F e R), 2 µL de água nuclease free e 50 ng de DNA. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador marca Eppendorf, assim o programa de amplificação para todos os iniciadores constituiu-se de desnaturação inicial a 95°C durante 5 min., seguido de 30 ciclos de amplificação (95°C[1min.], 1 min. de anelamento a uma temperatura específica de cada primer, 72°C de alongamento da cadeia por 1 min.) e um alongamento final a 72°C por 7 min. As amplificações foram realizadas usando um conjunto de *primers* (Tabela 7).

Para maior precisão de genotipagens, foi utilizado um genotipador automático denominado AdvanCE™ FS96 System. Este equipamento utiliza um sistema de eletroforese capilar e não necessita de primers fluorescentes marcados. É um equipamento com a maior sensibilidade, rapidez na análise e possui alta resolução de separação dos fragmentos. Para realização da corrida, a PCR foi diluída em TE (2,0 µL da PCR + 20 µL de TE), com duração de 100 minutos para as 95 amostras. As leituras feitas pelo genotipador automático foram analisadas no programa PROSize®2.0 que estão representadas pelas nos apêndices A.6 e A7.

Tabela 7 - *Primers* microssatélites de *Hevea brasiliensis* utilizados nas análises. Nome do loco, sequência do *primer* Forward (F) e Reverse (R), tipo de repetição, temperatura de anelamento (Ta °C), conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), intervalo de tamanho dos produtos encontrados para cada loco e número de acesso no GeneBank

Loco	Sequência do <i>primer</i>	Motivo <sup>2</sup>	Ta °C <sup>1</sup>	PIC <sup>2</sup>	Amplitude <sup>1</sup>	Número de acesso (GenBank) <sup>2</sup>
IAC-Hv07	R -CAGCCTACAGCAGATTTGAA F- GGCTGCCATTTGTAGTTTTA	(GA)16	60	0,82	218-284	AY486744
IAC-Hv11	R-CTCGTCTTCTAACTCCGCTCTA F- TATCGATATTGTGGTGCTTGAA	(CT)21	60,8	0,64	234-300	AY486754
IAC-Hv23	R- ATGGAGGAATAAAAAGGGTCTA F- GGGATGATTGTTTGAAGGATT	(CT)19	55,5	0,56	212-264	AY486856
IAC-Hv53	R- CATGATGAGTGCTGAATAGAGA F-TGTAAGTTTGACCAAGGATGTA	(CA)16	61,2	0,60	238-286	AY486646
IAC-Hv69	R- TTTTACCCCTTTGGATACAGAG F- GCCACAAGCTAATGATGATGAA	(CT)15	61,2	0,78	130-182	AY486724
IAC-Hv74	R-TAAAGCAGGAAAAGAAATAAAG F- TCCAAGAAGACCAAGAGTT	(GA)17	55,5	0,84	160-214	AY486807
IAC-Hv76	R- AACTGACCCAACCCTTCTCT F- TTCCCTTGCACTCATTCCCT	(GA)13	55,5	0,81	180-220	AY486815

Fonte: <sup>1</sup>Dados da própria autora; <sup>2</sup>Gouvêa (2009)

### 5.3.6 Análise da diversidade genética e do índice de fixação

A diversidade genética das amostras foi caracterizada pelos índices: número total de alelos ( $k$ ), número médio de alelos por loco ( $R$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e heterozigosidade esperada segundo as proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$ ) em que:  $p_i$  é a frequência do alelo  $i$ .

O índice de fixação ( $F$ ) foi estimado para se inferir os níveis de endogamia nas amostras, utilizando a expressão de Nei (1977):

$$\hat{F} = 1 - \frac{\hat{H}_o}{\hat{H}_e}$$

A significância estatística da estimativa do índice  $F$  foi verificada utilizando o método de permutação (1000 repetições). A diferenciação genética entre adultos e entre progênies das populações foi calculada utilizando-se o método de Weir e Cockerham (1984). Todas estas análises foram realizadas, utilizando o programa FSTAT versão 2.9.3.2. (GOUDET, 1995).

### 5.3.7 Análise do sistema de reprodução

As análises do sistema de reprodução foram baseadas no modelo misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989) e as estimativas obtidas utilizando o *software* “Multilocus MLTR” (RITLAND, 2002). O programa MLTR estima as frequências alélicas tanto do pólen como dos óvulos subtraindo do genótipo das sementes os alelos maternos, de forma que se tem tanto a frequência dos alelos maternos (óvulos) e paternos (pólen). O método numérico utilizado foi de máxima verossimilhança EM (Maximization Expectation) em nível de árvores matrizes e o Newton-Rapson em nível de populações. Os parâmetros estimados foram taxa populacional de cruzamento multiloco ( $t_m$ ), taxa populacional de cruzamento uniloco ( $t_s$ ), taxa de cruzamento entre aparentados ( $t_m - t_s$ ), correlação de autofecundação ( $r_s$ ) e correlação multiloco de paternidade ( $r_{p(m)}$ ). Os genótipos maternos foram inferidos a partir da estimativa do genótipo materno mais provável, utilizando o método de Brown e Allard (1970), alterado por Ritland (2002). O intervalo de confiança foi estimado a 95% de probabilidade por 1000 reamostragens *bootstraps*. Estes parâmetros foram utilizados para estimar outros parâmetros demográficos e genéticos, como: número efetivo de árvores polinizadoras ( $\hat{N}_{ep} = 1/\hat{r}_{p(m)}$ ) e o coeficiente médio de coancestria ( $\Theta$ ) entre plantas dentro de progênies, calculado pela seguinte expressão:

$$\hat{\Theta} = 0,125(1 + \hat{F}_p)[4\hat{s} + (\hat{t}_m + \hat{s}\hat{t}_m\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_{p(m)})] \text{ (RITLAND, 1989).}$$

Para conhecer a representatividade genética das progênies, foi estimado o tamanho efetivo médio dentro de progênie ( $N_{e(v)}$ ):

$$N_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\Theta}\left(\frac{n-1}{n}\right) + \frac{1+\hat{F}_o}{2n}} \text{ (COCKERHAM, 1969),}$$

em que,  $n$  é o tamanho da amostra. O número de árvores matrizes para a coleta de sementes foi calculado assumindo que o objetivo é reter na amostra total o tamanho efetivo de referência de 150,  $\hat{m} = N_{e(\text{referência})} / \hat{N}_{e(v)}$  (SEBBENN, 2003).

As frequências de pares de coancestria foram obtidas com base em Sebbenn (2006):

i) Autofecundações:

a) progênies de irmãos de autofecundação:  $\hat{P}_{IA} = \hat{s}^2(1 - \hat{r}_s) + \hat{s}\hat{r}_s$ ;

b) progênies de irmãos de autofecundação e cruzamento:  $\hat{P}_{AC} = 2\hat{s}\hat{t}_s(1 - \hat{r}_s)$ ;

c) progênies de irmãos de autofecundação e cruzamento entre indivíduos parentes:

$$\hat{P}_{AC(CP)} = 2\hat{s}(\hat{t}_m - \hat{t}_s)(1 - \hat{r}_s).$$

ii) Cruzamentos entre indivíduos não parentes:

a) progênies de irmãos completos:  $\hat{P}_{IC} = [\hat{t}_s^2(1 - \hat{r}_s) + \hat{t}_s\hat{r}_s]\hat{r}_p$ ;

b) progênies de meios irmãos:  $\hat{P}_{MI} = [\hat{t}_s^2(1 - \hat{r}_s) + \hat{t}_s\hat{r}_s](1 - \hat{r}_p)$ .

iii) Cruzamentos entre indivíduos parentes:

a) progênies de irmãos completos aparentados:

$$\hat{P}_{IC(CP)} = [(\hat{t}_m - \hat{t}_s)^2(1 - \hat{r}_s) + (\hat{t}_m - \hat{t}_s)\hat{r}_s]\hat{r}_p$$

b) progênies de meios irmãos aparentados:

$$\hat{P}_{MI(CP)} = [(\hat{t}_m - \hat{t}_s)^2(1 - \hat{r}_s) + (\hat{t}_m - \hat{t}_s)\hat{r}_s](1 - \hat{r}_p).$$

iv) Cruzamentos entre indivíduos parentes e não parentes:

a) progênies de irmãos completos parentes e não aparentados:

$$\hat{P}_{IC(CP,np)} = 2\hat{t}_s(\hat{t}_m - \hat{t}_s)(1 - \hat{r}_s)\hat{r}_p$$

b) progênies de meios irmãos parentes e não aparentados:

$$\hat{P}_{MI(CP,np)} = 2\hat{t}_s(\hat{t}_m - \hat{t}_s)(1 - \hat{r}_s)(1 - \hat{r}_p).$$

## 5.4 RESULTADOS

### 5.4.1 Diversidade genética e índice de fixação

Todos os sete locos microssatélites usados nas amostras de adultos e progênies das populações melhorada e selvagem apresentaram polimorfismo (Tabela 8). As duas populações estudadas apresentaram alta diversidade genética para os sete locos analisados com total de 240

alelos na PM e 229 na PS. Para as duas situações, os indivíduos adultos apresentaram um número menor de alelos do que o observado nas progênies, sugerindo a imigração de alelos via pólen. A riqueza alélica ( $R$ ) variou na média de 12,7 a 13,5. O índice de fixação ( $F$ ) variou em média de 0,022 a 0,533, sendo significativamente diferente de zero para todos os índices analisados. Foi observado excesso de homozigotos nas progênies, com maiores proporções de excesso de heterozigotos nas gerações adultas. A heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) em média foi maior do que a heterozigosidade observada ( $H_o$ ) em todas as variáveis. Entretanto foram próximas entre os adultos. O índice de fixação foi maior em média nas progênies em ambas as populações. A heterozigosidade esperada  $H_e$  teve amplitude de 0,664 a 0,928. Para as populações as médias foram de 0,860 e 0,846 para adultos de 0,858 e 0,853 para as progênies, para PM e PS, respectivamente.

A heterozigosidade observada variou de 0,839 a 0,747 para adultos e 0,425 a 0,399 para as progênies, para PM e PS, respectivamente com amplitude de (0,222 a 0,968). Mantello et al. (2012), obtiveram variação de 0,130 a 0,880, com estudos de diversidade genética com *Hevea* spp. Em outro estudo de divergência gênica realizados por Gouvêa et al. (2010) observaram uma amplitude ainda maior (0,050 a 0,960) de  $H_o$  em *Hevea brasiliensis*. Le Guen et al.(2009) também observaram situação semelhante com a média de  $H_e$  e a média de  $H_o$  (0,739 e 0,599, respectivamente), indicando um alto nível de deficiência de heterozigotos. Estudos mais recentes realizados por Souza et al. (2015) com a maior abrangência já realizada sobre a genética da população do gênero *Hevea*, com coleções localizadas no Peru (região de Madre de Dios), Brasil (estados do Acre, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia), também apresentou a média de  $H_o$  (0,640) semelhantes aos estudos anteriores, apesar de encontrar alta diversidade nas coleções.

O comportamento destes parâmetros de diversidade genética e índice de fixação sugere que os adultos possuem baixo grau de parentesco e alta heterozigosidade, mas durante o período reprodutivo ocorreram alguns eventos (cruzamentos correlacionados) que causaram a redução de heterozigosidade e aumento de endogamia na geração descendente.

#### 5.4.2 Sistema de reprodução

Para as árvores adultas o índice de fixação ( $F_m$ ) não foi significativamente diferente de zero na PM, indicando ausência de endogamia (Tabela 9), mas indicando baixo valor de

endogamia para a PS (0,077). Todos os demais índices de fixação estimados do sistema de reprodução foram significativamente menor que 1,0. A taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) variou de 0,726 (PM) a 0,798 (PS), indicando que grande parte das sementes foram originadas por cruzamentos, mas houve presença de autofecundação, caracterizado por um sistema de reprodução misto. Taxa de cruzamento entre parentes ( $t_m - t_s$ ) foi expressiva, variando de 0,346 (PM) a 0,402 (PS). A correlação de autofecundação ( $r_s$ ) foi baixa para ambas as populações, tendo baixa contribuição na variação individual da taxa de cruzamentos. A presença de cruzamentos correlacionados foi confirmada nos altos valores de correlação de paternidade ( $r_{p(m)}$ ), conferindo um baixo número efetivo de doadores de pólen ( $N_{ep}$ ). Como consequência dos valores dos parâmetros mencionados, a geração descendente é marcada pela proporção de pares de irmãos de autofecundação e cruzamento ( $\hat{P}_{AC}$ ) e proporção de pares de irmãos completos ( $\hat{P}_{IC}$ ). Em coerência, dentro das progênies, o coeficiente de coancestria ( $\Theta$ ) e o tamanho efetivo ( $N_e$ ) apresentaram valores próximos ao de irmãos-completos ( $\Theta = 0,25$ ,  $N_e = 2$ ) em ambas as populações. Assim, o número de sementes ( $m$ ) para a coleta de sementes para reter um tamanho efetivo de 150 está entre 89 (PS) a 94 (PM).

Em nível de famílias,  $F_m$  e  $F_o$  apresentaram comportamentos semelhantes em nível de população, já mencionados anteriormente, reforçando a hipótese de uma seleção contra indivíduos homozigotos entre o estágio de sementes e adultos (Tabelas 10 e 11). Na PM, o número total de alelos variou de 22 a 36 e a heterozigosidade observada variou de 0,30 a 0,53. A PS apresentou comportamento semelhante para estes parâmetros.

A taxa de cruzamentos nas progênies da PM variou de 0,70 a 0,82 e na PS variou de 0,65 a 0,96 (Tabelas 10 e 11). A correlação de paternidade variou de 0,34 a 1,00 para a PM e de 0,26 a 1,00 para a PS. Todas estas estimativas foram significativamente maior que zero em ambas as populações.

O número efetivo de doadores de pólen, coeficiente de coancestria e o tamanho efetivo de variância dentro de progênies não apresentaram diferenças entre as famílias dentro das populações estudadas.

Tabela 8 - Diversidade genética, índice de fixação em árvores adultas e progênies de populações de *Hevea brasiliensis*.  $k$  é o número total de alelos;  $R$  é o número médio de alelos por loco;  $H_o$  é a heterozigosidade observada;  $H_e$  é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg;  $F$  é o índice de fixação,  $n$  é o número de indivíduos

Loco	Adultos PM (n= 31)					Progênies PM (n = 617)				
	$k$	$R$	$H_o$	$H_e$	$F$	$k$	$R$	$H_o$	$H_e$	$F$
Hv07	14	14,0	0,903	0,928	0,027*	21	14,5	0,389	0,915	0,575*
Hv11	17	16,8	0,871	0,919	0,052*	26	17,3	0,405	0,917	0,558*
Hv23	6	5,9	0,742	0,664	-0,117*	15	7,6	0,457	0,705	0,352*
Hv53	11	10,9	0,613	0,819	0,252*	21	11,8	0,383	0,814	0,530*
Hv69	14	13,8	0,839	0,900	0,068*	24	14,2	0,472	0,896	0,473*
Hv74	18	17,8	0,968	0,908	-0,066*	22	15,9	0,391	0,880	0,556*
Hv76	14	13,8	0,936	0,881	-0,062*	17	13,5	0,482	0,882	0,454*
Média	13,4	13,3	0,839	0,860	0,022	20,9	13,5	0,425	0,858	0,499
Desvio Padrão	4,0	3,9	0,124	0,094	0,123	3,8	3,2	0,043	0,076	0,079
Total	94	--	--	--	--	146	--	--	--	--

Loco	Adultos PS (n=30)					Progênies PS (n = 386)				
	$k$	$R$	$H_o$	$H_e$	$F$	$k$	$R$	$H_o$	$H_e$	$F$
Hv07	15	15,0	0,733	0,901	0,186*	25	14,6	0,331	0,891	0,628*
Hv11	14	14,0	0,866	0,883	0,019*	19	13,3	0,222	0,869	0,744*
Hv23	11	11,0	0,799	0,845	0,054*	21	12,2	0,373	0,850	0,561*
Hv53	13	13,0	0,966	0,884	-0,093*	21	13,5	0,378	0,888	0,574*
Hv69	15	15,0	0,834	0,843	0,011*	21	15,6	0,588	0,874	0,327*
Hv74	9	9,0	0,333	0,668	0,501*	15	8,8	0,342	0,697	0,509*
Hv76	12	12,0	0,700	0,895	0,218*	18	14	0,554	0,900	0,384*
Média	12,7	12,7	0,747	0,846	0,128	20,0	13,1	0,399	0,853	0,533
Desvio Padrão	2,2	2,2	0,203	0,082	0,196	3,1	2,2	0,129	0,071	0,142
Total	89	--	--	--	--	140	--	--	--	--
Total geral	183					286				

Fonte: Dados da própria autora, \*  $P < 0,05$

Tabela 9 - Sistema de reprodução em populações de *Hevea brasiliensis* (95% IC é o intervalo de confiança a 95%, calculado por 1,000 re-amostragens *bootstraps*)

Índice	População melhorada média (95% IC)	População selvagem média (95% IC)
Número de progenies	31	30
Taxa de cruzamento multiloco: $t_m$	0,726 (0,709 a 0,747)	0,798 (0,774 a 0,822)
Taxa de cruzamento unilocos: $t_s$	0,380 (0,356 a 0,419)	0,396 (0,377 a 0,434)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,346 (0,328 a 0,353)	0,402 (0,388 a 0,397)
Correlação de autofecundação: $r_s$	0,017(0,004 a 0,037)	0,015 (0,001 a 0,045)
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,734 (0,644 a 0,770)	0,600 (0,492 a 0,648)
Número efetivo de doadores de pólen: $N_{ep}$	1,36 (1,29 a 1,55)	1,67 (1,54 a 2,03)
Índice de fixação nas árvores adultas: $F_m$	0,009(-0,051 a 0,027)	0,077 (0,015 a 0,107)
Proporção de pares de irmãos de autofecundação: $\hat{P}_{IA}$	0,075 (0,064 a 0,085)	0,041 (0,032 a 0,051)
Proporção de pares de irmãos de autofecundação e cruzamento: $\hat{P}_{AC}$	0,398 (0,378 a 0,413)	0,322 (0,293 a 0,350)
Proporção de pares de meios-irmãos: $\hat{P}_{MI}$	0,140 (0,128 a 0,179)	0,255 (0,238 a 0,304)
Proporção de pares de irmãos completos: $\hat{P}_{IC}$	0,387 (0,324 a 0,430)	0,382 (0,295 a 0,438)
Progenies de irmãos de autofecundação e cruzamento entre indivíduos parentes: $\hat{P}_{AC(CP)}$	0,186 (0,160 a 0,205)	0,160 (0,132 a 0,179)
Progenies de irmãos completos aparentados: $\hat{P}_{IC(CP)}$	0,091 (0,081 a 0,089)	0,099 (0,078 a 0,104)
Progenies de meios irmãos aparentados: $\hat{P}_{MI(CP)}$	0,033 (0,045 a 0,027)	0,066 (0,057 a 0,080)
Progenies de irmãos completos parentes e não aparentados: $\hat{P}_{IC(CP,np)}$	0,190 (0,161 a 0,204)	0,188 (0,147 a 0,208)
Progenies de meios irmãos parentes e não aparentados: $\hat{P}_{MI(CP,np)}$	0,069 (0,061 a 0,089)	0,125 (0,113 a 0,152)
Coancestria entre e dentro de progênies: $\Theta$	0,298 (0,277 a 0,301)	0,281 (0,261 a 0,287)
Tamanho efetivo de variância: $N_e$	1,60 (1,59 a 1,71)	1,68 (1,66 a 1,79)
Número de árvores matrizes para a coleta de sementes: $m$	94 (88 a 94)	89 (84 a 90)

Fonte: Dados da própria autora.

Tabela 10 - Estimativas de sistema de reprodução e estrutura genética para cada família na PM

Família	$F_m$	$n$	$k$	$H_o$	$F_o$	$t_m \pm DP$	$t_m - t_s \pm DP$	$r_s \pm DP$	$r_{p(m)} \pm DP$	$N_{ep}$	$\Theta$	$N_e$
1	0,16	20	36	0,52	0,40	0,82±0,10	0,08±0,08	0,08±0,02	0,34±0,08	2,98	0,266	1,74
2	0,22	20	28	0,44	0,50	0,78±0,14	0,15±0,12	0,08±0,04	0,63±0,11	1,58	0,332	1,41
3	0,3	20	29	0,38	0,57	0,78±0,08	0,17±0,05	0,08±0,01	0,54±0,13	1,85	0,342	1,37
4	0,26	20	29	0,41	0,52	0,78±0,08	0,16±0,05	0,08±0,01	0,80±0,12	1,26	0,363	1,30
5	0,05	20	30	0,53	0,4	0,74±0,08	0,03±0,05	0,08±0,01	0,61±0,14	1,64	0,295	1,58
6	0,33	20	26	0,34	0,61	0,74±0,08	0,11±0,06	0,08±0,01	0,66±0,13	1,51	0,382	1,24
7	0,37	20	32	0,41	0,53	0,70±0,09	0,07±0,05	0,09±0,00	0,48±0,13	2,07	0,388	1,23
8	0,31	20	27	0,35	0,60	0,78±0,17	0,28±0,16	0,08±0,07	0,97±0,06	1,03	0,402	1,19
9	0,03	20	24	0,46	0,48	0,70±0,09	0,14±0,06	0,09±0,00	0,81±0,11	1,23	0,323	1,45
10	0,22	20	29	0,39	0,56	0,74±0,09	0,11±0,06	0,09±0,01	0,72±0,16	1,39	0,356	1,33
11	0,19	20	25	0,43	0,51	0,82±0,07	0,18±0,05	0,08±0,01	0,74±0,13	1,36	0,322	1,45
12	0,37	20	32	0,38	0,56	0,74±0,08	0,15±0,06	0,08±0,00	0,63±0,16	1,59	0,390	1,22
13	0,27	20	30	0,40	0,54	0,70±0,09	0,08±0,06	0,09±0,01	0,64±0,15	1,57	0,379	1,26
14	0,33	20	29	0,41	0,52	0,78±0,08	0,15±0,06	0,08±0,01	0,43±0,10	2,34	0,336	1,40
15	0,21	20	29	0,44	0,50	0,70±0,08	0,13±0,06	0,09±0,00	0,63±0,15	1,59	0,359	1,32
16	0,14	20	29	0,53	0,39	0,78±0,13	0,08±0,11	0,08±0,04	0,81±0,13	1,24	0,329	1,44
17	-0,01	20	25	0,52	0,40	0,78±0,08	0,20±0,04	0,08±0,01	0,93±0,09	1,08	0,299	1,57
18	0,16	20	26	0,39	0,55	0,78±0,09	0,33±0,03	0,08±0,01	1,00±0,00	1,00	0,359	1,32
19	0,40	20	22	0,30	0,65	0,70±0,09	0,22±0,03	0,09±0,01	0,99±0,06	1,01	0,461	1,04
20	0,22	20	27	0,36	0,58	0,78±0,08	0,24±0,06	0,08±0,01	0,83±0,10	1,21	0,357	1,32
21	0,23	20	27	0,39	0,56	0,74±0,08	0,13±0,06	0,08±0,01	0,72±0,12	1,39	0,360	1,31
22	0,11	20	27	0,51	0,42	0,78±0,08	0,11±0,05	0,08±0,01	0,75±0,13	1,33	0,316	1,49
23	0,15	20	23	0,44	0,50	0,78±0,10	0,09±0,08	0,08±0,02	0,93±0,09	1,08	0,348	1,36
24	0,24	20	27	0,42	0,52	0,82±0,07	0,18±0,06	0,08±0,07	0,81±0,11	1,23	0,347	1,36
25	0,07	20	31	0,51	0,42	0,78±0,08	0,14±0,04	0,08±0,01	0,55±0,12	1,83	0,281	1,65
26	0,14	20	23	0,42	0,51	0,70±0,09	0,14±0,06	0,09±0,00	0,93±0,08	1,07	0,369	1,29
27	0,24	20	24	0,41	0,53	0,78±0,08	0,19±0,05	0,08±0,01	0,94±0,08	1,06	0,376	1,27
28	0,15	20	25	0,46	0,47	0,82±0,07	0,23±0,05	0,08±0,01	0,72±0,13	1,39	0,310	1,51
29	0,18	20	32	0,50	0,42	0,78±0,13	0,12±0,11	0,08±0,05	0,67±0,15	1,50	0,327	1,45
30	0,34	17	27	0,38	0,56	0,71±0,09	0,10±0,06	0,09±0,00	0,78±0,16	1,28	0,412	1,15
31	0,18	20	24	0,39	0,55	0,78±0,08	0,23±0,06	0,08±0,01	0,88±0,09	1,14	0,349	1,35

$\pm DP$ : desvio padrão; \* $P < 0,05$ ;  $F_m$  e  $F_o$  são o índice de fixação para árvores adultas e dentro de famílias, respectivamente;  $n$  é o tamanho da amostra dentro de família;  $k$  é o número de total de alelos;  $H_o$  é a heterozigosidade observada;  $t_m$  é a taxa de cruzamento multiloco;  $t_m - t_s$  é a taxa de cruzamento entre parentes;  $r_s$  e  $r_{p(m)}$  são a correlação de autofecundação e de multiloco de partenidade, respectivamente;  $N_{ep}$  é número efetivo de doadores de pólen;  $\Theta$  e  $N_e$  são o coeficiente de coancestria e o tamanho efetivo de variância dentro das famílias, respectivamente.

Fonte: Dados da própria autora

Tabela 11 - Estimativas de sistema de reprodução e estrutura genética para cada família na PS

Família	$F_m$	$n$	$k$	$H_o$	$F_o$	$t_m \pm DP$	$t_m - t_s \pm DP$	$r_s \pm DP$	$r_{p(m)} \pm DP$	$N_{ep}$	$\Theta$	$N_e$
1	0,18	12	26	0,46	0,48	0,85±0,09	0,16±0,06	0,08±0,01	0,41±0,22	2,42	0,269	1,62
2	0,05	13	22	0,38	0,57	0,79±0,10	0,21±0,07	0,08±0,01	0,81±0,14	1,23	0,300	1,48
3	0,18	19	27	0,38	0,58	0,75±0,09	0,12±0,05	0,07±0,01	0,51±0,12	1,98	0,318	1,46
4	0,14	19	26	0,38	0,58	0,75±0,09	0,23±0,06	0,07±0,01	0,62±0,14	1,60	0,320	1,45
5	0,31	16	27	0,37	0,58	0,71±0,11	0,19±0,07	0,07±0,01	0,48±0,25	2,09	0,363	1,28
6	0,37	24	38	0,40	0,55	0,80±0,08	0,18±0,05	0,06±0,01	0,35±0,09	2,85	0,326	1,45
7	0,21	19	25	0,41	0,54	0,80±0,09	0,24±0,06	0,07±0,01	0,64±0,11	1,56	0,324	1,44
8	0,29	13	26	0,38	0,57	0,79±0,09	0,16±0,06	0,08±0,01	0,75±0,15	1,33	0,362	1,27
9	0,26	7	20	0,29	0,68	0,87±0,08	0,17±0,06	0,09±0,08	0,80±0,31	1,25	0,331	1,24
10	0,18	11	22	0,38	0,57	0,84±0,09	0,21±0,08	0,08±0,10	0,85±0,17	1,18	0,328	1,35
11	0,30	17	27	0,34	0,61	0,83±0,09	0,34±0,08	0,07±0,04	0,63±0,14	1,60	0,331	1,39
12	0,34	14	25	0,32	0,64	0,86±0,08	0,24±0,06	0,08±0,01	0,62±0,17	1,62	0,327	1,38
13	0,40	13	29	0,41	0,55	0,86±0,08	0,16±0,07	0,08±0,02	0,26±0,33	3,83	0,292	1,52
14	0,34	12	20	0,30	0,66	0,65±0,12	0,21±0,09	0,09±0,01	1,00±0,08	1,00	0,458	1,02
15	0,43	11	25	0,35	0,61	0,77±0,10	0,17±0,08	0,08±0,01	0,54±0,31	1,87	0,381	1,19
16	0,21	19	30	0,44	0,50	0,85±0,24	0,33±0,24	0,07±0,09	0,76±0,14	1,32	0,321	1,46
17	0,24	19	27	0,38	0,57	0,85±0,09	0,38±0,08	0,07±0,02	0,79±0,10	1,26	0,333	1,40
18	0,17	14	24	0,43	0,52	0,86±0,08	0,23±0,05	0,08±0,01	0,79±0,13	1,26	0,309	1,47
19	0,23	14	28	0,46	0,48	0,80±0,09	0,15±0,06	0,08±0,01	0,57±0,20	1,76	0,316	1,44
20	0,07	10	24	0,43	0,52	0,83±0,09	0,17±0,06	0,09±0,01	0,82±0,17	1,22	0,298	1,45
21	0,15	9	21	0,44	0,50	0,82±0,10	0,15±0,07	0,09±0,01	0,88±0,26	1,14	0,331	1,33
22	0,13	6	22	0,48	0,45	0,86±0,08	0,11±0,05	0,09±0,01	0,83±0,34	1,21	0,303	1,34
23	0,11	12	25	0,49	0,45	0,85±0,08	0,25±0,06	0,08±0,01	0,83±0,12	1,21	0,302	1,48
24	0,12	9	21	0,38	0,56	0,82±0,10	0,18±0,07	0,09±0,01	1,00±0,19	1,00	0,335	1,30
25	0,33	9	23	0,38	0,58	0,82±0,10	0,15±0,07	0,09±0,01	0,97±0,21	1,03	0,396	1,14
26	0,14	12	23	0,40	0,54	0,85±0,10	0,17±0,08	0,08±0,02	0,74±0,17	1,36	0,299	1,48
27	0,16	7	21	0,49	0,45	0,96±0,01	0,29±0,03	0,10±0,00	0,77±0,19	1,30	0,269	1,50
28	0,20	10	28	0,46	0,49	0,83±0,10	0,15±0,07	0,09±0,01	0,65±0,28	1,55	0,311	1,41
29	0,19	6	22	0,48	0,47	0,95±0,00	0,25±0,04	0,10±0,00	0,85±0,36	1,17	0,292	1,37
30	0,32	10	25	0,37	0,58	0,83±0,10	0,18±0,06	0,09±0,01	0,56±0,28	1,80	0,293	1,46

$\pm DP$ : desvio padrão; \* $P < 0,05$ ;  $F_m$  e  $F_o$  são o índice de fixação para árvores adultas e dentro de famílias, respectivamente;  $n$  é o tamanho da amostra dentro de família;  $k$  é o número de total de alelos;  $H_o$  é a heterozigosidade observada;  $t_m$  é a taxa de cruzamento multiloco;  $t_m - t_s$  é a taxa de cruzamento entre parentes;  $r_s$  e  $r_{p(m)}$  são a correlação de autofecundação e de multiloco de partenidade, respectivamente;  $N_{ep}$  é número efetivo de doadores de pólen;  $\Theta$  e  $N_e$  são o coeficiente de coancestria e o tamanho efetivo de variância dentro das famílias, respectivamente.

Fonte: Dados da própria autora

## 5.5 DISCUSSÃO

### 5.5.1 Importância da diversidade genética para a cultura da seringueira

A diversidade genética está diretamente relacionada com programas de melhoramento genético e conservação genética da espécie. Com vista ao melhoramento genético, são desejáveis altos índices de diversidade, pois facilita para o melhorista selecionar os indivíduos de melhores performances para o caráter alvo, ou ainda, encontrar algum alelo raro que pode conferir melhor resistência e adaptação a diversidades do meio, além de propiciar maiores ganhos de seleção. Pretendendo a conservação genética da espécie, o ponto chave é a amostragem, ou seja, deve-se coletar sementes de modo que represente o melhor possível a população natural coletada, e por sua vez, esta terá duas utilidades: *i*) a primeira será a conservação genética da espécie; *ii*) e a segunda servirá de população base para o programa de melhoramento, sendo desejável, assim como no primeiro item, ampla diversidade genética. Neste contexto, o presente estudo comparou uma população natural localizada em Rio Branco, Acre (PS) com um teste de progênies via sementes, sendo as matrizes um material clonal, com certo grau de melhoramento (PM). A hipótese inicial era que a PS teria maior diversidade genética que a PM, porém isto não ocorreu. O interessante é que ambas as populações e suas respectivas progênies apresentaram certo padrão de diversidade genética.

Isto pode ter ocorrido devido à amostragem da PS, ou seja, na coleta de sementes, mesmo respeitando um raio de 100 m de distância entre uma árvore para a outra, pode ocorrer à presença de parentesco de uma árvore para a outra nestes limites de distância, sugerindo que esta população apresente estrutura genética espacial. Outro ponto importante é que a espécie é polinizada por pequenos insetos que percorrem pequenas distâncias, sendo provável a ocorrência de várias polinizações na mesma árvore, já que a *Hevea brasiliensis* é monoica e com flores unissexuais, ou a presença de cruzamentos correlacionados, conferindo na redução de indivíduos heterozigotos na geração descendente. Assim, com a ocorrência destes eventos em sucessivas vezes nos períodos reprodutivos da população natural, contribuiu para o estreitamento da base genética, tornando-a semelhante à população com grau de melhoramento. Por fim, a última hipótese pode ser devido ao histórico da cultura, como ela já foi explorada desordenadamente no passado, de forma extrativista, as pessoas “esgotavam” as melhores árvores em função da extração do látex, dentro do ambiente natural, eliminando com o passar dos anos os melhores indivíduos dentro da floresta, e conseqüentemente, estreitando a base genética da espécie no habitat natural. Paiva (1992) que iniciou os estudos com a

população natural do presente trabalho, relata que os seringais nativos, onde foram coletados os materiais para análises, distam 8 km, situando-se próximo a uma rodovia que liga Rio Branco (AC) a Porto Velho (RO), que a vegetação entre os mesmos, era antropizada pela implementação de atividades agropecuárias.

Para a população descendente, os níveis de diversidade genética são determinados pelos padrões do sistema de reprodução na população parental. Como estes padrões reprodutivos foram semelhantes em ambas PM e PS, os níveis de diversidade genética também foram semelhantes nas sementes. O decréscimo desta diversidade nas sementes ocorreu devido à deriva genética causada pela autofecundação, e cruzamentos correlacionados, que já foram mencionados anteriormente.

### 5.5.2 Endogamia

O conhecimento da genética da seringueira ainda é incipiente em função das dificuldades intrínsecas dessa espécie, tais como: a natureza heterozigótica da cultura, o longo período necessário para iniciar a extração de látex e a baixa produtividade de sementes por polinização. Assim, conseqüentemente a espécie apresenta depressão por endogamia (LESPINASSE et al., 2000). Como consequência, o melhoramento genético dessa espécie tem sido lento em função do tempo necessário para a completa avaliação de novos genótipos (JAYASHREE et al., 2003). Paiva (1992) sugere que a presença na endogamia da espécie podem ser estratégia biológica para manter o equilíbrio no ecossistema tropical. Ou seja, o grau de endogamia estimado seja devido a autofecundação ao cruzamento entre parentes, deve apresentar alguma vantagem adaptativa. Uma possibilidade seria a de provocar a homozigose dos genes deletérios e devido à seleção natural eliminar as plantas não adaptadas ao ambiente natural. Portanto, o cruzamento entre clones primários de origens diferentes, que são plantas que já passaram pela seleção natural e artificial, antes da clonagem, podem expressar diferentes graus de vigor heterótico.

Outra possibilidade seria a presença de alelos nulos, neste estudo, que resultam em genótipos homozigotos quando na realidade são genótipos heterozigotos, devido à ausência de amplificação de alguns alelos, resultando no “viés” das estimativas do índice de fixação. Le guen et al. (2009), estudando populações naturais de *H. brasiliensis*, constataram a presença de alelos nulos. Por quase todos os locos e populações, as diferenças entre heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada é provavelmente o resultado de alelos nulos não detectados, o que leva à conclusão errônea de que os indivíduos heterozigotos com um nulo e

um alelo visíveis são homozigotos (DAKIN; AVISE, 2004). O mesmo autor, justifica também o índice de fixação significativo para dez das 14 populações de estudo, fato semelhante corrido no presente estudo, com índice de fixação significativo para todas as populações.

### 5.5.3 Sistema de reprodução em relação ao melhoramento *versus* conservação

*Hevea brasiliensis* é uma espécie monoica apresentando fecundação cruzada, mas não deixa de existir autofecundação em uma mesma árvore ou entre os mesmo indivíduos de um mesmo clone. Apesar de incomum, a ausência de estrita autoincompatibilidade em seringueiras (CLÉMENT-DEMANGE et al., 2001) permite a autopolinização, que poderia contribuir para a maior proporção de genótipos homozigotos nas populações naturais. Para os clones, é verificado também, uma falta sincronia no florescimento, o que poderia proporcionar a ocorrência de autopolinização, ou polinização de clones de origem comum, gerando certo grau de parentesco.

A polinização é feita por pequenos insetos da família Ceratopogonidae (Heleidae) e tripses que operam em curtas distâncias para polinização cruzada (GONÇALVES et al., 2001) e a dispersão das sementes é feita pela hidrocória e autocoria. Yeang e Chevallier (1999) estimaram que a proporção de cruzamento e autofecundação com mudança de distância, o pólen pode ser transportado a distâncias muito consideráveis por agentes polinizadores. O modelo de regressão neste estudo sugeriu um alcance teórico de  $0 \pm 3$  a  $1 \pm 1$  km, embora muito poucos grãos de pólen seria esperado atingir este limite. Estes mecanismos podem explicar a existência de estrutura genética espacial, onde os indivíduos próximos possuem algum grau de parentesco, e conseqüentemente, os altos valores de cruzamentos entre parentes e a presença de endogamia na geração descendente. Segundo Laurance et al. (2004) a longevidade de *H. brasiliensis* em populações naturais pode permitir a sobreposição de gerações contribuindo para cruzamentos entre parentes. A baixa densidade de ocorrência dentro do ambiente natural pode facilitar que haja mutuamente polinização entre as mesmas árvores vizinhas. Outro fato interessante é que a espécie possui uma proporção de flores femininas para masculinas de 1:60, podendo este ser variável (GONÇALVES; FONTES, 2009). Isto sugere que o polinizador tem maior probabilidade de polinizar flores femininas da mesma planta e contribui para um baixo número efetivo de doadores de pólen. Assim, pelas características da espécie e de seus agentes polinizadores serem tão marcantes, não houve diferenças contrastantes entre uma população natural (PS) com um teste de progênies clonais via sementes (PM). Em coerência, o valor do coeficiente de coancestria foi próximo ao

esperado para irmãos-completos, contribuindo para maior presença de proporção de irmãos de autofecundação e cruzamento e proporção de pares de irmãos completos.

Qualquer programa de melhoramento se resume em selecionar indivíduos com características desejáveis, realizar cruzamentos, avaliar seus descendentes e iniciar o ciclo novamente. Isto, com o passar dos anos vai estreitar a base genética, podendo deixar os indivíduos melhorados suscetíveis a alguma diversidade incomum nos plantios comerciais. Com as mudanças climáticas e suas adversidades, hoje não se pode apenas visar um indivíduo com alta produtividade ou resistência a alguma praga, por exemplo, e sim genótipos capazes de ter boa adaptação em diferentes ambiente. Em outras palavras, é preciso obter indivíduos que tenham bom desempenho em longo prazo. Este é o ponto e a preocupação no presente trabalho. Com a presença da depressão por endogamia, os descendentes de uma população base já terão uma presença maior de alelos recessivos, iniciando um programa de melhoramento comprometido. Outro ponto é o baixo valor do tamanho efetivo de variância. Em uma população panmítica, espera-se um  $N_e$  igual a 4, no presente estudo o valor não chegou a 2, representando que os indivíduos desta população base submetidos a um programa de melhoramento, em um futuro próximo já terá problemas. Assim, o uso de métodos clássicos de melhoramento, como a aplicação da genética quantitativa, já não será o suficiente. Para se ter uma ideia, a *H. brasiliensis* tem um longo ciclo reprodutivo e de seleção, sendo necessários pelo menos cinco anos de avaliações para uma seleção efetiva de progênies promissoras e pais desejáveis que serão incluídos no próximo ciclo de seleção ou para a formação de jardins clonais (GONÇALVES et al., 2004). O uso de seleção precoce já é uma realidade para os programas de melhoramento da cultura, porém o uso de ferramentas moleculares proporcionaria ganhos mais precisos em menor tempo, diminuindo o ciclo de melhoramento.

Todavia, para maximizar os programas de melhoramento, deve-se preocupar com o  $N_e$ . Para aumentar este parâmetro deve-se realizar uma nova amostragem destas populações, formando novas populações bases. Para isso, primeiramente é importante fazer um estudo da extensão da estrutura genética espacial existente nas populações naturais de ambas estudadas, para adquirir informações adequadas das distâncias de uma árvore para outra a ser coletada, evitando amostragem de indivíduos aparentados. O presente estudo sugeriu coletar sementes de pelo menos de 89 árvores na PS e 94 na PM, assim havendo assim um incremento no  $N_e$  e diminuição nos cruzamentos correlacionados, geração descendente, além de realizar uma

conservação *ex situ* da espécie, com uma representividade mais próxima da realidade, em forma de teste de progênies ou população base.

## 5.6 CONCLUSÕES

1. As progênies das duas populações obtiveram mais diversidade alélica do que as árvores adultas, devido a ocorrência de fluxo gênico. Contudo, houve uma diminuição na diversidade genética na geração de progênies, devido a endogamia encontrada.
2. O nível de melhoramento não influenciou o sistema de reprodução das populações, já que os resultados foram semelhantes. Entretanto a endogamia apresentada foi gerada por cruzamentos correlacionados e não por autofecundação.
3. Devido ao tamanho efetivo ( $N_e$ ) menor que 4, há necessidade de coletar-se sementes para fins de conservação genética, recuperação ambiental e melhoramento florestal de pelo menos 94 e 89 árvores, para PM e PS respectivamente.
4. Para entender melhor a endogamia, há necessidade de se conhecer a estrutura genética espacial em seringueiras nativas e comerciais.

## REFERÊNCIAS

- BAWA, K. S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. **Evolution**, Lancaster, v. 28, p. 85-92, 1974.
- BICKNELL, R. A.; KOLTUNOW, A. M. Understanding apomixes: recent advances and remaining conundrums. **Plant Cell**, Rockville, n. 16, p. 228–245, 2004.
- BOUYCHOU, J. G. La biologie de l'*Hevea*. **Revue Générale du Caoutchouc et des Plastiques**, Gentilly, v. 40, p. 933-1001, 1969.
- BROWN, A. D. H.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphism. **Genetics**, Austin, v. 66, n. 1, p. 113-145, 1970.
- CHASE, M.; KESSELI, R.; BAWA, K. Microsatellite markers for population and conservation genetics of tropical trees. **American Journal Botany**, Sta. Louis, v. 83, n. 1, p.51–57, 1996.
- CHIN, E. C. L.; SENIOR, M. L.; SHU, H.; SMITH, J. S. C. Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation. **Genome**, Ottawa, v. 39, p. 866-873, 1996.
- CLÉMENT-DEMANGE, A.; LEGNATE, H.; SEGUIN, M.; CARRON, M. P.; LE GUEN, V.; CHAPUSET, T.; NICOLAS, D. Rubber tree. In: CHARRIER, A.; JACQUOT, M.; HAMON, S.; NICOLAS, D. (Ed.). **Tropical plant breeding**. New Hampshire: Science, 2001. p. 455–480.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lancaster, v. 23, p. 72-84, 1969.
- CUCO, S. M.; BANDEL, G. Hermaphroditism in the rubber tree *Hevea brasiliensis*(Willd. ex Adr. de Juss.) Muell. Arg. – II. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 1998. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-47571998000400019&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47571998000400019&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 12 jan. 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v. 12, p. 13-15, 1990.
- DAKIN, E. E.; AVISE, J. C. Microsatellite null alleles in parentage analysis. **Heredity**, London, v. 93, p. 504–509, 2004
- ECHT, C. S.; MAY-MAQUARDT, P.; HSEIH, M.; ZAHORCHAK, R. Characterization of microsatellite markers in eastern white pine. **Genome**, Ottawa, v. 3, p. 1102-1108, 1996.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – Embrapa. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa/CNPQ, 1999. 412 p.

- FERREIRA, M. E.; GATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. Brasília, DF: Embrapa, CENARGEN, 1998. 220 p.
- GIUDICE-NETO, J. D.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e ligação em locos isoenzimáticos de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 101-110, 2004.
- GONÇALVES, P. S.; BATAGLIA, O. C.; ORTOLONI, A. A.; FONSECA, F. da S. **Manual de heveicultura para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 2001. 78 p. (Boletim Técnico IAC, 189).
- GONÇALVES, P. S.; CARDOSO, M. Origem e domesticação da seringueira. **O Agrônomo**, Campinas, v. 39, p. 277-287, 1987.
- GONÇALVES, P. S.; FONTES, J. R. A. Domesticação e melhoramento de seringueira. In: BOREM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Org.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa: Suprema, 2009. p. 395-423.
- GONÇALVES, P. S.; MARTINS, A. L. M.; BORTOLETTO, N.; SAES, L. A. Selection and genetic gains for juvenile trees in progenies of *Hevea* in São Paulo state, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, p. 207-214, 2004.
- GOUDET, J. FSTAT. (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate *F*-statistics. **Heredity**, London, v. 86, p. 485-486, 1995.
- GOUVÊA, L. R. L. **Divergência genética em seringueira estimada através de técnicas multivariadas e marcadores moleculares microssatélites**. 2009.100 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo, Campinas, 2009.
- GOUVÊA, L. R. L.; RUBIANO, L. B.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; GONÇALVES, P. S. Genetic divergence of rubber tree estimated by multivariate techniques and microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 308-318, 2010.
- HAMRICK, J. L.; GODT, J. W. Allozyme diversity on plant species. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. J.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (Ed.). **Plant population genetics, breeding, and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 43-63.
- HERNANDEZ, F. B. T.; LEMOS FILHO, M. A. F.; BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, 1995. 45 p. (Série Irrigação, 1)
- JAYASHREE, R. et al. Genetic transformation and regeneration of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Transgenic plants with a constitutive version of an anti-oxidative stress superoxide dismutase gene. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 22, n. 3, p. 201-209, 2003.
- LAURANCE, W. F.; NASCIMENTO, H. E. M.; LAURANCE, S. G.; CONDIT, R.; D'ANGELO, S.; ANDRADE, A. Inferred longevity of Amazonian rainforest trees based on a long-term demographic study. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 190, p. 131-143, 2004.

LE GUEN, V.; DOARÉ, F.; WEBER, C.; SEGUIN, M. Genetic structure of Amazonian populations of *Hevea brasiliensis* is shaped by hydrographical network and isolation by distance. **Tree Genetics & Genomes**, Heidelberg v. 5, p. 673–683, 2009.

LESPINASSE, D.; ROIDER-GOUD, M.; GRIVET, L.; LECONTE, A.; LEGNATE, H.; SEGUIN, M. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) based on RFLP, AFLP, microsatellite, and isozyme markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, p. 127-138, 2000.

MANOEL, R. O.; ALVES, P. F.; DOURADO, C. L.; GAINO, A. P. S. C.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Contemporary pollen flow, mating patterns and effective population size inferred from paternity analysis in a small fragmented population of the Neotropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 12, n. 3, p. 613-623, 2012.

MANTELO, C. C.; SUZUKI, F. L.; SOUZA, L. M.; GONÇALVES, P. S. G.; SOUZA, A. P. Microsatellite marker development for the rubber tree (*Hevea brasiliensis*): characterization and cross-amplification in wild *Hevea* species. **BMC Research Notes**, v.5, n. 329, p. 1-8, 2012.

MORI, E. S.; SEBBENN, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; GURIES, R. P. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium* Mating system in natural populations of *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 99, p. 307-317, 2013.

NEI, M. *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of Human Genetics**, London, v. 41, p. 225-233, 1977.

PAIVA, J. ; KAGEYAMA, P. K.; VENCOSKY, R.; CONTEL, P. B. Genetics of rubber tree [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Müell. Arg.]: Genetic variation in natural populations. **Silvae Genetica**, Berlin, v. 43, n. 5/6, p. 306–311, 1994.

PAIVA, J. R. **Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Müell. Arg.)**. 1992. 145 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

PARANJONTHY, K. Physiological aspects of wintering flower induction and fruit-set in *Hevea*. In: \_\_\_\_\_. **RRIM *Hevea* breeding course**. Kuala Lumpur: RRIM, 1980. p.1-17.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989. Disponível em: <[http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/reprints/1989\\_Evolution\\_CorrMatings.pdf](http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/reprints/1989_Evolution_CorrMatings.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2017.

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

SCHROTH, G.; COUTINHO, P.; MORAES, V. H. F.; ALBERNAZ, A. K. M. Rubber agroforests at the Tapajós river, Brazilian Amazon: environmentally benign land use systems in an old forest frontier region. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, San Francisco, v. 97, n. 1, p. 151–165, 2003

SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. **Pomares de sementes de espécies nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 193-198.

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. 147-162, 2003.

SECCO, R. S. A botânica da seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell-Arg.] In: ALVARENGA, A. P.; CARMO, C. A. F. S. (Ed.). **Seringueira**. Viçosa: Epamig. 2008. p. 1-24.

SPOLADORE, J.; MANSANO, V. F.; FREITAS, L. C. D.; SEBBENN, A. M.; LEMES, M. R. DNA marcadores microssatélites para *Swartzia glazioviana* (Fabaceae), uma espécie ameaçada da Mata Atlântica brasileira. **Applications in Plant Sciences**, Washington, v. 4, n. 2, p. 1-4, 2016.

SOUZA, L. M.; LE GUEN, V.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SILVA, C. C.; MANTELLO, C. C.; CONSON, A. R. O.; VIANNA, J. P. G.; ZUCCHI, M. I.; ERIVALDO SCALOPPI JUNIOR, J.; FIALHO, J. F.; MORAES, M. L. T.; GONÇALVES, P. S.; SOUZA, A. P. Genetic diversity strategy for the management and use of rubber genetic resources: More than 1,000 wild and cultivated accessions in a 100-genotype core collection. **Plos One**, San Francisco, v. 10, p. 1-20, 2015.

VIEIRA, M. L. C.; SANTINI, L.; DINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

WARMKE, H. E. Studies on natural pollination of *Hevea brasiliensis* in Puerto Rico. **Science**, Washington, v. 113, p. 646-648, 1951.

WARMKE, H. E. Studies on natural pollination of *Hevea brasiliensis* in Brazil. **Science**, Washington, v. 116, p. 474-475, 1952.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358-1370, 1984. Disponível em: <<https://openpsych.net/forum/attachment.php?aid=624>>. Acesso em: 12 fev. 2017.

WHITE, G. M.; POWELL, W. Cross-species amplification of SSR loci in the Meliaceae family. **Molecular Ecology**, Chichester, v. 6, p. 1195–1197, 1997.

YEANG, H.; CHEVALLIER, M. H. Range of *Hevea brasiliensis* pollen dispersal estimated by esterase isozyme. **Annals Botany**, Oxford, v. 84, n. 5, p.681–684, 1999.

## APÊNDICES

Tabela A1 - População selvagem (PS) constituída por 37 progênies de polinização aberta localizadas em Selvíria, MS

<b>Progênies</b>	<b>Tamanho da progênie</b>	<b>Progênies</b>	<b>Tamanho da progênie</b>
<b>1</b>	12	<b>20</b>	3
<b>2</b>	13	<b>21</b>	10
<b>3</b>	19	<b>22</b>	9
<b>4</b>	19	<b>23</b>	3
<b>5</b>	16	<b>24</b>	6
<b>6</b>	25	<b>25</b>	12
<b>7</b>	19	<b>26</b>	9
<b>8</b>	13	<b>27</b>	9
<b>9</b>	7	<b>28</b>	12
<b>10</b>	11	<b>29</b>	7
<b>11</b>	17	<b>30</b>	10
<b>12</b>	14	<b>31</b>	6
<b>13</b>	13	<b>32</b>	8
<b>14</b>	12	<b>33</b>	5
<b>15</b>	11	<b>34</b>	3
<b>16</b>	21	<b>35</b>	7
<b>17</b>	19	<b>36</b>	6
<b>18</b>	14	<b>37</b>	5
<b>19</b>	14	-	-

Fonte: Elaborado pela própria autora

Tabela A2 - População melhorada (PM) constituída por 31 progênies de polinização aberta localizadas em Selvíria, MS

Ordem	Clone	Genealogia
1	RRIM 600 ill.	RRIM 600 (Tjir 1 x PB 86) ill.
2	IAC 40 ill.	IAC 40 [RRIM 608 (AVROS 33 x Tjir 1) x AVROS 1279 (AVROS 156 x AVROS 374)] ill.
3	IAC 41 ill.	IAC 41 [RRIM 608 (AVROS 33 x Tjir 1) x AVROS 1279 (AVROS 256 x AVROS 374)] ill.
4	PB 235 ill.	PB 235 [PB 5/51 (PB 56 x PB24) x PB S/78 (PB 49 x PB 25)] ill.
5	IAC 35 ill.	IAC 35 [(F 351 x AVROS 49) x RRIM 600 (Tjir 1 x PB 86)] ill.
6	64B 850 ill.	64B 850 [RRIM 623 (PB 49 x Pil B 84) x Fx 25 (F351 x AVROS 49)] ill.
7	PB 260 ill.	PB 260 [PB 5/51 (PB 56 x PB 24) x PB49] ill.
8	PB 252 ill.	PB 252 [PB 86 x PB 32/36 (PB 49 x PB 186)] ill.
9	IRCA 111 ill.	IRCA 111 [PB 5/51 (PB 56 x PB 24) x RRIM 600 (Tjir 1 x PB 86)] ill.
10	RRIM 606 ill.	RRIM 606 [Tjir 1 x PB 49] ill.
11	RRIM 701 ill.	RRIM 701 [44/553 x RRIM 501 (Pil A 44 x Lun N)] ill.
12	IAC 15 ill.	IAC 15 [RRIM 504 (Pil A 44 x Lun N) x RRIM 600 (Tjir 1 x PB 86)] ill.
13	PB 28/59 ill.	PB 28/59 (PBIG seedling ill.) ill.
14	IAC 311 ill.	IAC 311 [AVROS 509 (Pil A 44 x Lun N) x Fx 25 (F 351 x AVROS 49)] ill.
15	IAC 301 ill.	IAC 301 [RRIM 501 (Pil 49 X Lun N) x AVROS 1518 (AVROS 214 x AVROS 256)] ill.
16	RO I 110 ill.	RO/ I/110 <sup>(1)</sup> ill.
17	IAC 307 ill.	IAC 307 [AVROS 1328 (AVROS 214 x AVROS 374) x PR 107] ill.
18	PR 255 ill.	PR 255 (Tjir 1 x PR 107) ill.
19	RO I 35 ill.	RO/ I/ 35 <sup>(1)</sup> ill.
20	IAN 873 ill.	IAN 873 (PB 85 x FA 1717) ill.
21	IAC 44 ill.	IAC 44 [IAN 2325 [PB 86 x Fx 3933 (F 4542 x AVROS 363)] x AVROS 1328 (AVROS 214 x AVROS 374)] ill.
22	PR 261 ill.	PR 261 (Tjir 1 x PR 107) ill.
23	PB 217 ill.	PB 217 [PB 5/51 (PB 56 x PB 24) x PB 6/9] ill.
24	GT1 ill.	GT1 <sup>(1)</sup> ill.
25	PB 330 ill.	PB 330 [PB 5/51 (PB56 x PB 24) x PB 32/36 (PB 49 x PB 186)] ill.
26	Fx 3864 ill.	Fx 3864 (PB 86 x FB 38) ill.
27	MT/I/ 45 ill.	MT/I/ 45 <sup>(1)</sup> ill.
28	Fx 2261 ill.	Fx 2261 (F1619 x AVROS 183) ill.
29	1-12-56-77 ill.	1-12-56-77 <sup>(1)</sup> ill.
30	Pind 595/89 ill.	Pind 595/89 [RRIM 600 (Tjir 1 x PB 86)] ill.
31	RRIM 725 ill.	Fx 25 ill.

ill., illegitimate = ilegítimo (clone obtido de uma planta matriz de polinização aberta); Clone africano (IRCA= Institute de Rescherches sur le Caoutchouc); clones brasileiros (Fx= Ford cruzamento; IAN = Instituto Agronômico do Norte; IAC=Instituto Agronômico de Campinas, MT=Mato Grosso, Pind=Pindorama; RO=Rondonia); clones indónesios (AVROS= Algemene Verening Rubber Planters Oostkust Sumatra; GT = Godang Tapen, Pr= Proefstation voor rubber,Tjir= Tjirandji); clones malaios (Lun=Lunderston, PB= Prang Besar, Pil= Pilmoor, RRIM=Rubber Research Institute of Malaysia ); 1-12-56-77 (clone Malaio). <sup>(1)</sup> Clone primário oriundo de parentais desconhecidos obtidos a partir da multiplicação vegetativa de árvore matriz com caracteres desejáveis.

Fonte: Elaborado pela própria autora

Tabela A3 - Estimativas do Índice Multiefeitos (IME) com base no caráter produção de borracha seca (PBS), para os 233 indivíduos, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, com  $k_f$  variável, na PM de *H. brasiliensis* aos oito anos após instalação, em Selvíria, MS

Ordem	Bloco	Família	Árvore	$f$	$\hat{a}$	$\hat{u} + \hat{a}$	Ganho	Nova Média	$N_e$	$d$	$g$
1	1	GT1	1	1725	898,1301	1144,8603	898,1301	1144,8603	1,0000	515.4676	1413,5977
2	1	IAC 301	7	1650	898,1301	1110,6162	881,0081	1127,7382	2,0000	489.6007	1353,4867
3	2	IAC 301	7	1410	736,1010	982,8311	832,7057	1079,4359	2,4828	404.4107	1140,5117
4	1	PB 217	6	1350	696,2574	942,9875	798,5936	1045,3238	3,4909	364.2594	1060,5168
5	1	PR 261	3	1350	628,8903	875,6204	764,6530	1011,3831	4,4944	410.9525	1039,8428
6	1	RRIM 600	8	1235	585,2452	831,9754	734,7517	981,4818	5,4962	344.0803	929,3255
7	2	IAC 35	10	1060	546,8564	793,5865	707,9095	954,6396	6,4972	265.618	812,4744
8	1	PB 235	4	1150	537,9885	784,7186	686,6694	933,3995	7,4979	280.9685	818,9570
9	1	PB 28/59	3	1110	531,2471	777,9772	669,4002	916,1304	8,4984	252.1743	783,4214
10	3	IAC 307	3	1115	516,6492	763,3794	654,1251	900,8553	9,4987	362.983	879,6323
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
224	2	ROI 110	4	225	-38,1980	208,5321	132,9783	379,7084	68,2536	17.7046	-20,4935
225	1	IRCA 111	5	185	-39,1316	207,5986	132,2133	378,9435	68,3023	-70.046	-109,1780
226	1	IRCA 111	10	185	-39,1316	207,5986	131,4552	378,1853	68,3056	-70.046	-109,1780
227	2	IAN 873	3	150	-39,7016	207,0285	130,7012	377,4313	68,2648	-72.5043	-112,2060
228	1	IAC 41	5	255	-41,2542	205,4759	129,9470	376,6771	68,5067	-30.2151	-71,4693
229	3	PB 252	1	170	-42,2679	204,4622	129,1950	375,9251	68,6555	-17.9416	-60,2095
230	1	IAC 40	2	220	-43,5392	203,1909	128,4439	375,1741	68,8051	-29.1805	-72,7198
231	3	IAC 15	6	175	-43,6036	203,1265	127,6992	374,4293	69,1405	-15.7945	-59,3981
232	2	PB 260	10	150	-44,1470	202,5831	126,9584	373,6886	69,3369	-45.2528	-89,3998
233	2	IAC 41	2	175	-44,2674	202,4627	126,2236	372,9537	69,5337	-32.2239	-76,4913

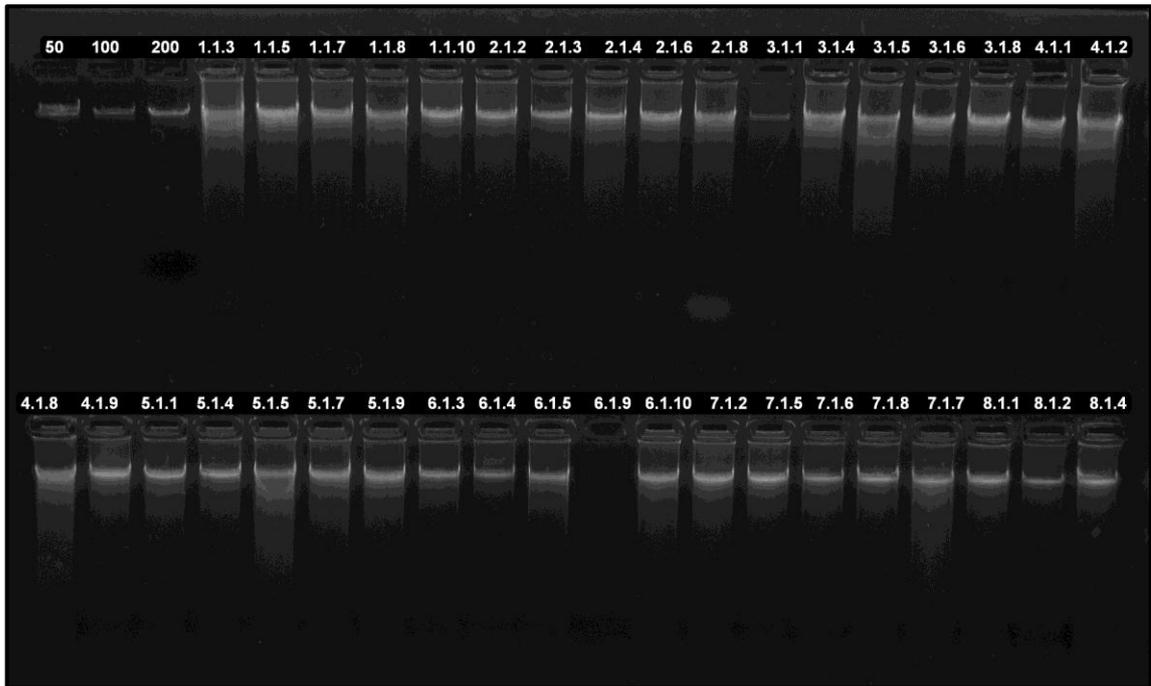
$k_f$  : número de indivíduos selecionados por matriz;  $f$  : valor fenotípico individual;  $\hat{a}$  : efeito genético aditivo predito;  $\hat{u} + \hat{a}$  : valor genético aditivo predito;  $N_e$  : tamanho efetivo populacional;  $d$  : efeito genético de dominância predito;  $g = a + d$  : efeito genotípico predito. Fonte: Dados da própria autora

Tabela A4 - Estimativas do Índice Multiefeitos (IME) com base no caráter perímetro a 1,30 m dos solo (PAP), para os 408 indivíduos, evidenciando os dez primeiros e os dez últimos selecionados, com  $k_f$  variável, na PS de *H. brasiliensis* aos 23 anos após instalação, em Selvíria, MS

Ordem	Bloco	Família	Árvore	$f$	$\hat{a}$	$\hat{u} + \hat{a}$	Ganho	Nova Média	$N_e$	$d$	$g$
1	2	24	1	169,7	62,5662	139,2940	62,5662	139,2940	1,0000	25,7006	88,2668
2	1	24	5	156,7	57,1034	133,8312	59,8348	136,5626	1,6000	22,0588	79,1621
3	3	13	2	168,6	51,3302	128,0580	56,9999	133,7277	2,4828	25,8203	77,1505
4	2	15	10	153,5	48,1855	124,9133	54,7963	131,5241	3,4909	24,0170	72,2025
5	3	24	5	142,0	42,8402	119,5680	52,4051	129,1329	3,6585	12,5500	55,3902
6	3	15	6	142,3	39,4583	116,1861	50,2473	126,9751	4,3636	18,1989	57,6572
7	3	7	4	147,0	37,3333	114,0611	48,4025	125,1302	5,3093	20,6213	57,9546
8	1	25	5	129,0	35,3365	112,0643	46,7692	123,4970	6,2745	16,8820	52,2185
9	2	7	3	127,0	33,8995	110,6272	45,3392	122,0670	6,9379	18,3321	52,2315
10	2	13	10	120,0	33,1728	109,9005	44,1226	120,8504	7,6190	13,7153	46,8880
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
399	1	17	4	29,2	-24,8287	51,8991	0,9577	77,6855	98,3894	-8,7883	-33,6170
400	1	3	7	30,0	-24,9024	51,8254	0,8931	77,6209	98,2693	-12,6198	-37,5222
401	2	19	2	36,2	-25,0807	51,6471	0,8283	77,5561	98,3371	-9,2475	-34,3282
402	2	17	8	40,0	-25,1122	51,6155	0,7638	77,4916	98,3133	-8,9773	-34,0895
403	2	4	7	38,7	-25,9767	50,7510	0,6974	77,4252	98,2298	-11,6816	-37,6583
404	2	35	2	28,2	-26,8222	49,9056	0,6293	77,3571	98,4833	-17,9320	-44,7541
405	1	18	7	36,5	-27,0562	49,6716	0,5609	77,2887	98,5538	-11,1439	-38,2001
406	1	1	2	25,3	-27,4908	49,2370	0,4919	77,2196	98,6554	-15,2125	-42,7032
407	2	18	8	29,7	-27,5840	49,1438	0,4229	77,1506	98,6969	-11,4958	-39,0798
408	3	4	4	38,9	-27,7269	49,0009	0,3539	77,0817	98,5889	-12,8484	-40,5753

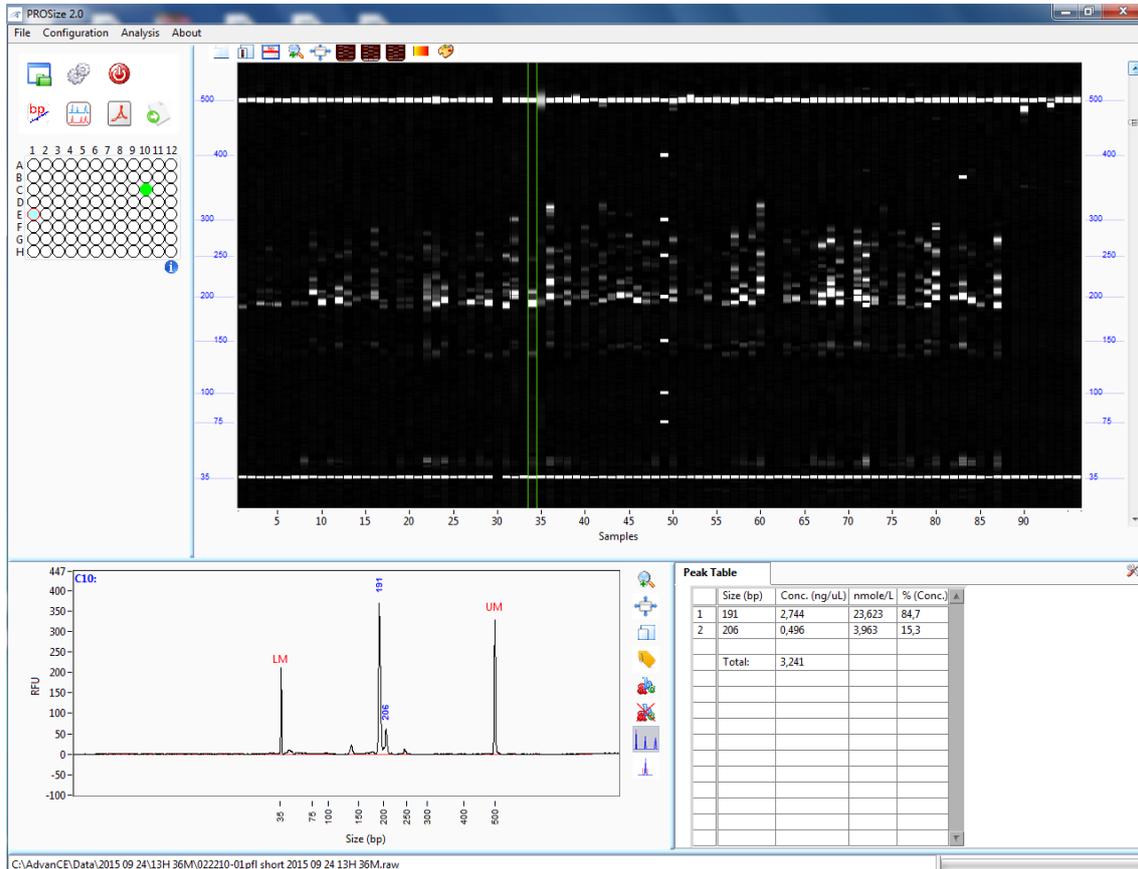
$k_f$  : número de indivíduos selecionados por matriz;  $f$  : valor fenotípico individual;  $\hat{a}$  : efeito genético aditivo predito;  $\hat{u} + \hat{a}$  : valor genético aditivo predito;  $N_e$  : tamanho efetivo populacional;  $d$  : efeito genético de dominância predito;  $g = a + d$  : efeito genotípico predito. Fonte: Dados da própria autora

Figura A1 - Quantificação do DNA em Gel de agarose (0,8%), para a PM



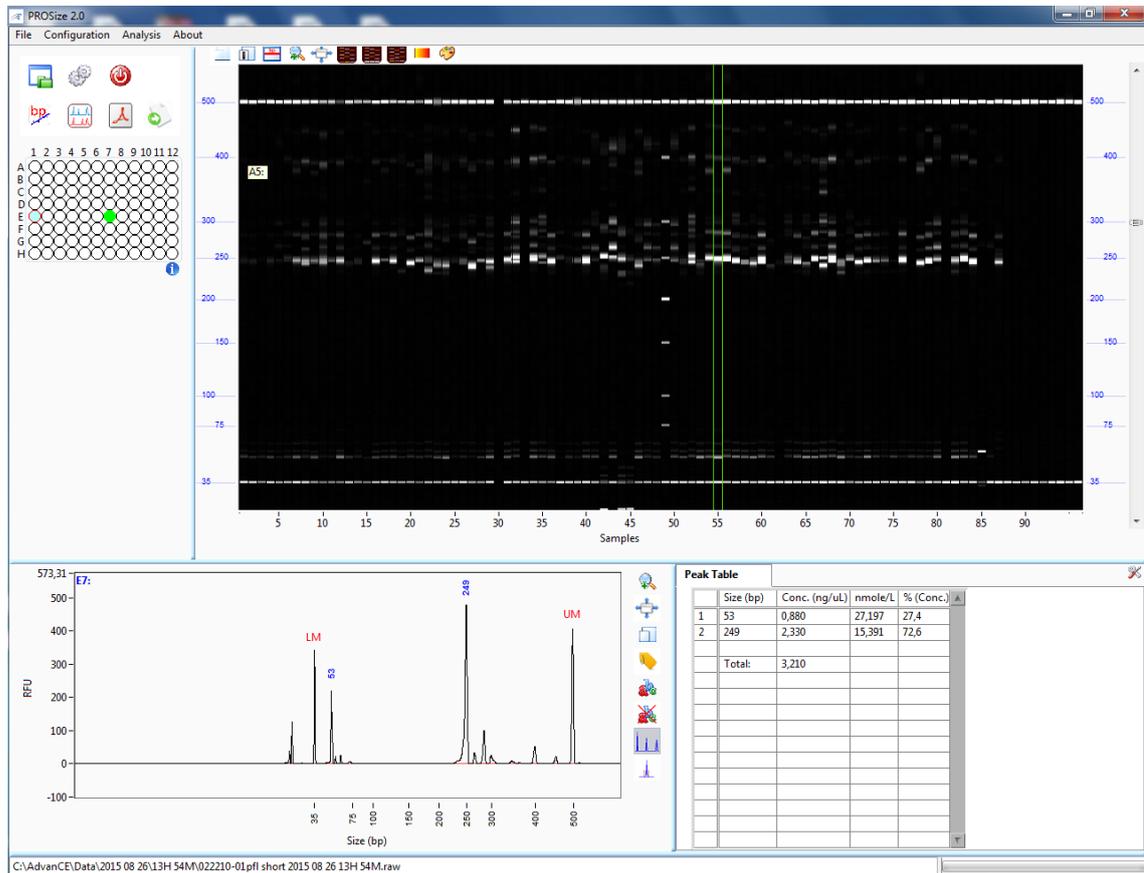
Fonte: Dados da própria autora

Figura A2 - Padrão geral do eletroferograma gerado pelo *Fragment Analyzer™ Automated CE System*. Nesse esquema vemos o gel virtual (quadro negro da figura) e o eletroferograma propriamente dito com os picos mostrando um indivíduo heterozigoto (190/206), além do *low marker* (LM) de 35pb e o *upper marker* (UM) (500pb), para o loco IAC-Hv 76



Fonte: Dados da própria autora

Figura A3 - Padrão geral do eletroferograma gerado pelo *Fragment Analyzer™ Automated CE System*. Nesse esquema vemos o gel virtual (quadro negro da figura) e o eletroferograma propriamente dito com os picos mostrando um indivíduo homozigoto (250/250), além do *low marker* (LM) de 35pb e o *upper marker* (500pb), para o loco IAC-Hv 07



Fonte: Dados da própria autora