

CONSEQUÊNCIAS DO MANEJO FLORESTAL NO SISTEMA DE REPRODUÇÃO DE *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle*

Alexandre Magno SEBBENN**

Eduardo GUSSON***

Paulo Yoshio KAGEYAMA***

RESUMO

Populações naturais de *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle estão sendo exploradas há muitas décadas, restando hoje apenas poucas populações naturais. Este trabalho teve como objetivos estudar as consequências da exploração florestal sobre os níveis de diversidade genética e o sistema de reprodução da espécie. Para isso, comparou-se uma população não explorada (Estação Ecológica de Juréia-Itatins) e uma explorada pelo corte seletivo (Fazenda Cindomel, Iguape-SP). Os níveis de diversidade genética observados na população não explorada foram, em geral, maiores ($\hat{A} = 1,71$; $\hat{A}_e = 1,29$; $\hat{H}_o = 0,197$; $\hat{H}_e = 0,224$) do que na explorada ($\hat{A} = 1,71$; $\hat{A}_e = 1,28$; $\hat{H}_o = 0,227$; $\hat{H}_e = 0,217$), embora as diferenças não sejam significativas. Por outro lado, a estimativa da taxa de cruzamento multiloco foi maior na população explorada ($\hat{t}_m = 0,996$) do que na não explorada ($\hat{t}_m = 0,923$). As estimativas das diferenças entre a taxa de cruzamento uniloco e multiloco revelaram a ocorrência de cruzamentos entre parentes nas populações não explorada ($\hat{t}_s - \hat{t}_m = 0,044$) e explorada ($\hat{t}_s - \hat{t}_m = 0,046$). A estimativa da correlação de paternidade revelou que uma parte considerável dos cruzamentos foi biparental em ambas as populações: não explorada ($\hat{r}_p = 0,570$) e explorada ($\hat{r}_p = 0,371$), e que parte das progênies são irmãos-completos. De modo geral, os resultados sugerem que a exploração alterou o sistema de reprodução da espécie, no sentido de favorecer cruzamentos mais diversificados.

Palavras-chave: caixeta; exploração florestal; espécies arbóreas tropicais; diversidade genética; endogamia.

1 INTRODUÇÃO

O sistema de reprodução de uma espécie determina, em parte, a estrutura genética de suas populações e é o elo de ligação entre as gerações. Por sua vez, a diversidade genética é a matéria-prima para adaptação, evolução e sobrevivência das espécies e indivíduos, especialmente sob condições de mudanças ambientais.

ABSTRACT

Natural population of *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle have been explored from many decades, and actually there is few remainder populations. The aims of this work were to verify the consequences of forest logging on levels of genetic diversity and mating system of the *T. cassinoides* populations, in a not logging (Juréia-Itatins Ecological Station) and a logging populations (Cindomel Farm, Iguape-SP). The observed levels of genetic diversity in not logging population ($\hat{A} = 1.71$; $\hat{A}_e = 1.29$; $\hat{H}_o = 0.197$; $\hat{H}_e = 0.224$) were, in general, higher than find out in logging population ($\hat{A} = 1.71$; $\hat{A}_e = 1.28$; $\hat{H}_o = 0.227$; $\hat{H}_e = 0.217$), although the differences are not significant. In another hand, the estimate of multilocus outcrossing rate was higher in the logging ($\hat{t}_m = 0.996$) than natural population ($\hat{t}_m = 0.923$). The estimates of the differences between multilocus and single-locus outcrossing rate revealed the mating among relatives in not logging ($\hat{t}_s - \hat{t}_m = 0.044$) and logging populations ($\hat{t}_s - \hat{t}_m = 0.046$). The estimates of paternity correlation revealed that part of the matings were biparentals in not logging ($\hat{r}_p = 0.570$) and logging populations ($\hat{r}_p = 0.371$) and part of progenies are full-sibs. These results suggesting that the forest logging change the mating system of this species, favoring outcrossing more diversified.

Key words: caixeta; forest logging; tropical tree species; genetic diversity; inbreeding.

Reduções na diversidade genética podem também predispor as espécies a doenças, reduzir a produtividade e limitar o melhoramento genético (Rajora & Pluhar, 2003). Portanto, o conhecimento do sistema de reprodução e da estrutura genética é fundamental para o delineamento de estratégias para a conservação, melhoramento genético e exploração florestal sustentada de espécies arbóreas (Sebbenn, 2002).

(*) Aceito para a publicação em setembro de 2005.

(**) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

(***) ESALQ/USP, Departamento de Ciências Florestais, Av. Pádua Dias, 15, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

O corte seletivo envolve a extração de uma proporção de árvores em fase reprodutiva e reduz a densidade populacional de árvores em florescimento que, em termos, pode reduzir a densidade de polinizadores (Murawski, 1995). Diversos estudos relatam alterações no sistema de reprodução após a exploração florestal como, por exemplo, o aumento da taxa de autofecundação (Murawski *et al.*, 1994; Sebbenn *et al.*, 2000; Obayashi *et al.*, 2002). Outras conseqüências detectadas após a exploração têm sido a perda de alelos, redução na heterozigosidade (Young & Boyle, 2000; Sebbenn *et al.*, 2001), aumento da divergência genética entre populações por deriva genética (Dayanandan *et al.*, 1999; Hamilton, 1999; Young & Boyle, 2000) e ruptura no fluxo de genes via pólen e sementes entre populações (Young *et al.*, 1996; Hamilton, 1999).

Tabebuia cassinoides (Lamarck) A. P. de Candolle – caixeta – é uma espécie arbórea tropical de alta densidade populacional (mais de 300 árvores por ha), endêmica da Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica), nas formações Terras Baixas, Baixo-Montana e Pioneiras de influência pluvial (Lorenzi, 1998). A espécie ocorre com alta densidade em locais brejosos e encharcados ao longo da costa brasileira, entre os Estados de Pernambuco (08°S) e Santa Catarina (26°S). Suas flores são hermafroditas e polinizadas principalmente por abelhas (Carvalho, 1994) e segundo estudos de Sebbenn *et al.* (2000) seu sistema de reprodução é misto, combinando autofecundações com cruzamentos, embora predominem os cruzamentos. Os frutos são do tipo síliqua estriada de 13 a 20 cm de comprimento, com numerosas sementes, que são dispersas pelo vento (anemocoria) e pela água (hidrocoria) (Carvalho, 1994), de forma que muitas sementes são depositadas e germinam nas vizinhanças da árvore materna, favorecendo a formação de estrutura genética espacial dentro das populações (Cavallari-Neto *et al.*, 2004) e o cruzamento entre parentes (Sebbenn *et al.*, 2000). A espécie também apresenta reprodução assexual por propagação vegetativa por raízes geminíferas, o que igualmente contribui para a formação de estrutura genética espacial dentro das populações.

T. cassinoides foi muito explorada no passado e continua sob pressão antrópica, embora existam atualmente poucas populações naturais remanescentes.

Em prévio estudo dos efeitos da exploração sobre a diversidade genética e o sistema de reprodução da espécie, detectou-se perda de alelos raros, redução nos níveis de heterozigosidade e alterações no sistema de reprodução, como o aumento da taxa de autofecundação (Sebbenn *et al.*, 2000, 2001). Devido aos resultados observados, considerou-se a necessidade de repetir o experimento a fim de confirmá-los. Assim, este trabalho teve com objetivos estudar os efeitos da exploração florestal sobre os níveis de diversidade genética e sistema de reprodução em uma população não explorada e uma explorada de *T. cassinoides*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de Estudo

O estudo dos efeitos da exploração sobre a diversidade genética e sistema de reprodução de *T. cassinoides* foi realizado em duas populações da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, sendo uma não explorada, localizadas na Estação Ecológica de Juréia-Itatins, e uma explorada, localizada na Fazenda Cindomel, próxima ao município de Iguape. A Estação Ecológica de Juréia-Itatins compreende uma área de aproximadamente 79.270 ha, na faixa litorânea do Estado de São Paulo, entre os municípios de Iguape e Peruíbe (Mantovani, 1993). O caixetal Juréia é contínuo, apresenta alta densidade populacional (mais de 300 indivíduos por hectare) e pode-se observar árvores com DAP (diâmetro à altura do peito) maior que 30 cm. Nessa área não existem relatos de exploração e, por isso, foi considerada como uma população não explorada. O caixetal Cindomel encontra-se distante 20 km do município de Iguape e 40 km da população Juréia. A Fazenda Cindomel situa-se nas coordenadas 24°23'S e 47°33'W. Esse caixetal foi intensamente explorado nos anos de 1985 e 1999, sendo que neste último ano todas as árvores com DAP maior que 10 cm foram retiradas. Em 2004, ano da amostragem para este estudo não foram detectadas árvores com DAP maior do que 15 cm. As árvores amostradas representavam a condução de brotação após o manejo. Estima-se que a densidade populacional seja de 50 indivíduos por hectare.

2.2 Amostragem

Para a análise genética da população parental, em cada população foram amostrados tecidos foliares de 60 árvores adultas reprodutivas. A amostragem foi estruturada em pequenos grupos das cinco árvores mais próximas entre si. Os grupos foram estabelecidos de forma aleatória dentro da população. A distância entre as árvores dentro dos grupos variou de 2 m a 15 m e a distância entre os grupos variou de 20 m a 70 m. Em cada uma das populações foram feitos 12 grupos aleatórios.

Para a análise das progênies foram amostradas sementes de polinização aberta de 21 árvores adultas (> 10 cm de DAP) de *T. cassinoides* na população Juréia e em 20 árvores na população Cindomel. Dessas árvores, procurou-se coletar sementes de árvores distantes entre si em, pelo menos, 50 m para evitar a coleta em árvores parentes. A escolha das árvores foi aleatória, sendo coletada quantidade de sementes suficiente para obter pelo menos dez plântulas por árvore matriz.

2.3 Eletroforese de Isoenzimas

As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de plântulas, empregando-se aproximadamente 20 mg de tecido de limbo foliar e a solução de extração número 1 de Alfenas (1998). A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de 2/3 de amido de milho (penetrose 30) a 13%, combinado com 1/3 de amido de batata (Sigma). As eletroforeses foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C. O tampão de cuba e do gel utilizado foi o Citrato Morfolina (CM pH 6,1 – Clayton & Tretiak, 1972), os sistemas investigados foram PGI, IDH, 6PGDH, G6PDH e LAP. A descrição detalhada do processo de eletroforese encontra-se em Cavallari-Neto *et al.* (2004).

2.4 Diversidade Genética

A diversidade genética foi caracterizada pelos índices número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade observada (H_o) e esperada segundo as proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e) e número efetivo de alelos por loco [$\hat{A}_e = 1/(1 - \hat{H}_e)$], estimados com o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002). Também foi estimado o índice de fixação (\hat{f}), conforme Weir (1996):

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

em que, n é o tamanho da amostra. A significância estatística do índice \hat{f} médio entre locos foi calculada por 10.000 *bootstraps*. O índice de fixação e os *bootstraps* foram calculados, usando-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002).

2.5 Análise do Sistema de Reprodução

O sistema de reprodução das populações de *T. cassinoides* foi analisado com base nos modelos de reprodução mista (Ritland & Jain, 1981) e cruzamentos correlacionados (Ritland, 1989), com o auxílio do programa “Multilocus MLTR” (Ritland, 1997). Os parâmetros estimados foram: *i*) taxa populacional de cruzamento multiloco (t_m), pelo método de máxima verossimilhança (Algoritmo EM, Expectation-Maximization); *ii*) taxa populacional de cruzamento uniloco (t_s); *iii*) taxa de cruzamento entre aparentados ($t_m - t_s$); *iv*) frequências alélicas dos óvulos e do pólen (o e p); *v*) índice de fixação nas árvores maternas (F_m); *vi*) correlação de autofecundação (r_s), e *vii*) correlação de paternidade (r_p). As pressuposições do modelo misto de Ritland & Jain (1981) são as seguintes: *i*) a probabilidade de um indivíduo qualquer da população cruzar independe de seu genótipo; *ii*) os alelos de diferentes locos segregam independentemente; *iii*) o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento com qualquer genótipo da população, e *iv*) ausência de seleção entre o período de fertilização e a avaliação dos marcadores genéticos. O erro padrão das estimativas dos parâmetros foi obtido por 500 reamostragens *bootstraps*. O teste de cruzamentos aleatórios foi avaliado pelo teste de homogeneidade entre as frequências alélicas dos óvulos vs. pólen, calculando-se o estimador \hat{F}_{ST} (Nei, 1977). O teste estatístico para verificar se a estimativa de \hat{F}_{ST} , para cada loco, era diferente de zero, foi dado pelo teste de qui-quadrado, $\chi^2 = 2n \hat{F}_{ST} (k-1)$, com $(k-1)(s-1)$ graus de liberdade, proposto por Workman & Niswander (1970),

em que: n = número de indivíduos nos dois grupos (pólen e óvulos), k = número de alelos e s = número de grupos. Os índices de fixação para adultos (F) e progênies (F_p) foram estimados juntamente com seus respectivos intervalos de confiança por 10.000 reamostragens *bootstraps*, usando o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002).

O coeficiente de coancestria (θ_{xy}) dentro de progênies foi estimado do coeficiente de correlação de parentesco (r_{xy}), entre plantas dentro de progênies, descrito em Ritland (1989),

$$\hat{r}_{xy} = 0,25(1 + \hat{F}_p)[4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)],$$

sendo, \hat{F}_p o estimador do índice de fixação (coeficiente de endogamia) da geração parental, e \hat{s} a estimativa da taxa de autofecundação dada por $1 - \hat{t}_m$. Os demais estimadores foram definidos anteriormente. Como em espécies diplóides, na ausência de endogamia, o coeficiente de parentesco (r_{xy}) é o dobro do coeficiente de coancestria (θ_{xy}), tem-se que, $\hat{\theta}_{xy} = \hat{r}_{xy} / 2$ e se pode obter o coeficiente de coancestria do coeficiente de parentesco. O tamanho efetivo de variância de uma única progênie foi estimado com base na variância amostral de um alelo, segundo derivações de Cockerham (1969) e, usando uma população idealizada como referência, como descrito por Caballero (1994):

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_p}{2n}},$$

em que n é o número de plantas por progênie.

O número de árvores matrizes necessários para reter o tamanho efetivo alvo ($N_{e(alvo)}$) foi calculado com base na expressão:

$$\hat{m} = N_{e(alvo)} \left[2\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}}{n} \right] \text{ (Sebbenn, 2003).}$$

Utilizou-se como objetivo para a coleta de sementes o tamanho efetivo alvo de 100.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Diversidade Genética

Os cinco sistemas isoenzimáticos investigados (PGI, IDH, 6PGDH e LAP) permitiram a obtenção de sete locos de atividade enzimática passíveis de interpretação (*Pgi*, *Idh1*, *Idh2*, *6pgdh1*, *6Pgdh2*, *G6pdh* e *Lap*). Desses locos, três eram monomórficos (*Idh1*, *Idh2* e *6pgdh1*) e quatro polimórficos (*Pgi*, *6Pgdh2*, *G6pdh* e *Lap*). Segundo estudo de segregação e ligação, os locos *Pgi* e *Idh-1* se encontram em desequilíbrio de ligação (Sebbenn & Seoane, 2004). Contudo, como o valor da medida de desequilíbrio de Burrows foi baixo ($\hat{\Delta} = 0,022$), e se dispunha de apenas quatro locos polimórficos, optou-se por manter estes locos nas análises da diversidade genética e do sistema de reprodução da espécie.

Em geral, as estimativas dos índices de diversidade genética entre as populações de *T. cassinoides* (TABELA 1) foram menores do que as encontradas em prévio estudo realizado com a espécie (Sebbenn *et al.*, 2001). A causa dos menores níveis de diversidade genética está provavelmente associada ao número de locos e aos diferentes locos utilizados. No presente estudo, foram utilizados apenas quatro locos polimórficos (*Pgi*, *6Pgdh2*, *G6pdh* e *Lap*). Ainda, o loco *Lap* não foi revelado no estudo de Sebbenn *et al.* (2001). A diferença no número e no tipo de locos ocorreu por não ter sido utilizado o mesmo protocolo, devido às alterações nas rotinas laboratoriais e disponibilidade de reagentes.

Comparando-se os níveis de diversidade genética entre a população não explorada e explorada (TABELA 1), no evento reprodutivo de 2004, utilizando-se os sete locos, verifica-se que não existem diferenças significativas entre os valores. Os índices porcentagem de locos polimórficos, número médio de alelos por loco e número efetivo de alelos por loco não variaram entre as populações não explorada e explorada. A heterozigosidade observada na população explorada (0,227) foi 13,2% superior ao valor encontrado na não explorada (0,197). Por outro lado, a heterozigosidade esperada na população não explorada (0,224) foi 3,1% superior a encontrada na explorada (0,220). Contudo, de acordo com o erro padrão, essas diferenças não são significativas.

SEBBENN, A. M.; GUSSON, E.; KAGEYAMA, P. Y. Conseqüências do manejo florestal no sistema de reprodução de *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle.

TABELA 1 – Estimativa dos índices de diversidade genética intrapopulacional em uma população de *T. cassinoides*. (n é o tamanho da amostra; L é o número de locos; A é o número médio de alelos por loco; A_e é o número efetivo de alelos por locos; H_o é a heterozigiosidade observada; H_e é a heterozigiosidade esperada; entre parênteses está o intervalo de confiança do erro das estimativas a 95% de probabilidade).

População	n	L	\hat{P}	\hat{A}	\hat{A}_e	\hat{H}_o	\hat{H}_e
<i>Análise com todos os locos</i>							
Não manejada (2001)*	110	13	84,6%	2,50 (0,20)	1,45 (0,34)	0,253 (0,081)	0,314 (0,051)
Manejada (2001)*	100	13	76,9%	2,30 (0,20)	1,36 (0,21)	0,174 (0,036)	0,266 (0,049)
Não manejada (2004)	200	7	57,1%	1,71 (0,29)	1,29 (0,16)	0,197 (0,080)	0,224 (0,084)
Manejada (2004)	200	7	57,1%	1,71 (0,29)	1,28 (0,15)	0,227 (0,086)	0,217 (0,082)
<i>Análise apenas com locos comuns</i>							
Não manejada (2001)	110	3	66,7%	3,00 (0,00)	1,74 (0,70)	0,254 (0,190)	0,366 (0,30)
Manejada (2001)	100	3	33,3%	2,67 (0,65)	1,34 (0,52)	0,147 (0,200)	0,204 (0,026)
Não manejada (2004)	200	3	66,7%	2,00 (1,13)	1,32 (0,50)	0,222 (0,280)	0,244 (0,270)
Manejada (2004)	200	3	66,7%	2,00 (1,13)	1,30 (0,44)	0,246 (0,270)	0,230 (0,250)

(*) Fonte: Sebbenn *et al.* (2001).

A quantificação da diversidade genética a partir apenas dos três locos comuns às duas análises (2001 e 2004) revela o mesmo padrão observado quando todos os locos são utilizados nos cálculos, embora os valores do número médio de alelos por loco, número efetivo de alelos por locos, heterozigiosidade observada e esperada aumentaram em as ambas populações, não explorada e explorada. No evento reprodutivo de 2001, a população não explorada apresentou maiores índices de diversidade genética tanto na análise com 13, como com 3 locos, embora de acordo com o intervalo de confiança estas diferenças não são significativas. No evento reprodutivo de 2004, apenas a heterozigiosidade observada reduziu com a exploração, e isto aconteceu tanto na análise com sete como com três locos. Os resultados, em termos gerais, indicam a perda de diversidade genética com a exploração, mas os cálculos dos intervalos de confiança não detectaram diferenças significativas entre as estimativas obtidas para as populações não explorada e explorada. Isso também indica que esses parâmetros são poucos sensíveis para detectar diferenças entre populações, visto o grande erro associado às estimativas. Para obterem-se menores erros seria necessário o uso de grande número de locos (mais que 20 locos).

3.2 Frequências Alélicas no Pólen e nos Óvulos

Existem diferenças significativas entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos, tanto na população explorada como na não explorada, sugerindo que os cruzamentos não ocorreram de forma aleatória (TABELA 2). Nas populações não explorada e explorada, dois locos (*Pgi* e *6Pgdh2*) dos quatro polimórficos (*Pgi*, *Idh-2*, *Lap* e *6Pgdh2*) apresentaram diferenças significativas entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos. Tais diferenças podem ser causadas por alterações na função masculina e feminina das plantas, cruzamentos biparentais, endogâmicos, autofecundações, imigração de pólen, variação na fenologia de florescimento, seleção entre o período de polinização e análise de isoenzimas, erro amostral em termos de número de progênies e desigual número de plantas por progênie (Ritland & Jain, 1981). Nesse caso, vários desses fatores podem estar causando essas diferenças. O tamanho amostral, aparentemente, não é a causa, porque foram amostradas sementes em, no mínimo, 20 árvores por população e 10 sementes por árvore. Segundo Ritland & Jain (1981) são necessárias sementes de pelo menos 12 árvores para obterem-se estimativas razoáveis. Descarta-se, também, a existência de diferenças na função sexual entre plantas devido ao sistema sexual da espécie ser hermafrodita, de forma que o mesmo indivíduo pode atuar tanto como doador quanto receptor de pólen. Todas as demais causas podem ter originado os desvios observados.

TABELA 2 – Estimativa da divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos cruzados antes e após o manejo de uma população de *T. cassinoides*.

Loco	População não explorada					População explorada							
	Alelo	Pólen	Óvulo	n	\hat{F}_{ST}	χ^2	GL	Pólen	Óvulo	n	\hat{F}_{ST}	χ^2	GL
<i>Pgi</i>	1	0,048	0,048					0,006	0,026				
	2	0,607	0,690					0,710	0,590				
	3	0,345	0,262	198	0,007	5,62*	2	0,284	0,385	178	0,013	9,56*	2
<i>Idh</i>	1	0,834	0,810					0,821	0,842				
	2	0,166	0,190	187	0,001	0,74	1	0,179	0,158	180	0,001	0,57	1
<i>Lap</i>	1	0,563	0,548					0,491	0,421				
	2	0,437	0,452	183	0,000	0,17	1	0,509	0,579	172	0,005	3,40	1
<i>6Pgdh2</i>	1	0,165	0,262					0,315	0,105				
	2	0,835	0,738	200	0,014	11,21**	1	0,685	0,895	174	0,066	46,25**	1

SEBBENN, A. M.; GUSSON, E.; KAGEYAMA, P. Y. Consequências do manejo florestal no sistema de reprodução de *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle.

3.3 Taxa de Cruzamento

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco foi alta tanto na população não explorada ($\hat{t}_m = 0,923$) como na explorada ($\hat{t}_m = 0,996$), mas significativamente diferente da unidade (TABELA 3).

Esse resultado confirma as prévias estimativas obtidas por Sebbenn *et al.* (2001). Os autores observaram estimativas inferiores e significativamente diferentes da unidade (variação de 0,783 a 0,895), atribuindo à espécie o sistema misto de reprodução, com predomínio de cruzamento.

TABELA 3 – Estimativas de parâmetros demográficos, de endogamia, sistema de reprodução e fluxo gênico em *T. cassinoides*. (Entre parênteses está o intervalo de confiança do erro das estimativas a 95% de probabilidade).

Parâmetro	Não explorada	Explorada
Número total de árvores matrizes (m)	20	20
Número total de progênies (n)	200	200
Índice de fixação na população adulta ($n = 60$): F_a	0,105 ^a	0,188 ^{*a}
Índice de fixação nas progênies: F_p	0,120	-0,067*
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,923 (0,010)	0,996 (0,000)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,879 (0,007)	0,950 (0,001)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,044 (0,006)	0,046 (0,004)
Correlação de autofecundação: r_s	0,080 (0,003)	0,097 (0,001)
Correlação multiloco de paternidade: r_p	0,570 (0,023)	0,371 (0,023)
Número médio de árvores polinizadoras: $\hat{N}_{ep} = 1 / \hat{r}_p$	1,75	2,70
Proporção de irmãos de autofecundação: $\hat{P}_{IA} = 1 - \hat{t}_m$	0,077	0,004
Proporção de irmãos-completos: $\hat{P}_{IC} = \hat{r}_p \hat{t}_m$	0,526	0,370
Proporção de meios-irmãos: $\hat{P}_{MI} = \hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$	0,397	0,626
Coancestria média dentro de progênies: θ_{xy}	0,207	0,172
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	2,23	2,65
Número de árvores para reter o tamanho efetivo de 100 (m)	45	38

(a) = valor médio para populações da Estação Ecológica de Juréia-Itatins (Fonte: Cavallari-Neto *et al.*, 2004).

(*) $P < 0,05$.

A estimativa da taxa de cruzamentos multiloco foi menor na população não explorada ($\hat{t}_m = 0,923$) relativamente à explorada ($\hat{t}_m = 0,996$), sendo, de acordo com o erro padrão, significativa a diferença entre estas estimativas. Por outro lado, Sebbenn *et al.* (2001) observaram menor taxa de cruzamento na população explorada (0,783) em comparação à natural (0,895), embora não houvesse diferença significativa entre as estimativas. Como esse estudo envolvia menor número de locos (4) e um novo loco (*Lap*), que não foi usado no estudo de Sebbenn *et al.* (2001), foram estimados os parâmetros do sistema de reprodução apenas para os três locos comuns a ambos os estudos, *Pgi*, *6Pgdh2* e *Idh-1* (TABELA 4). No evento reprodutivo de 2001, as taxas multiloco e uniloco de cruzamento e a correlação de paternidade foram maiores na população não explorada ($\hat{t}_m = 1,0$; $\hat{t}_s = 0,997$; $\hat{r}_p = 0,501$) do que na explorada ($\hat{t}_m = 0,872$; $\hat{t}_s = 0,876$; $\hat{r}_p = 0,065$), revelando o mesmo padrão reprodutivo observado no estudo original de Sebbenn *et al.* (2001). Por outro lado, no evento reprodutivo de 2004, as taxas multiloco e uniloco de cruzamento foram maiores na

população explorada ($\hat{t}_m = 1,0$; $\hat{t}_s = 0,994$) do que na não explorada ($\hat{t}_m = 0,923$; $\hat{t}_s = 0,910$), apresentando igualmente o mesmo padrão reprodutivo observado aqui na análise envolvendo os sete locos revelados (TABELA 3). Essa consistência entre os resultados obtidos, quando as estimativas foram calculadas usando todos os locos e quando apenas os locos comuns aos dois estudos foram utilizados, sugere que as diferenças observadas no sistema de reprodução entre as populações não explorada e explorada, nos eventos reprodutivos de 2001 e 2004, sejam o resultado de variações naturais no sistema de reprodução entre diferentes eventos reprodutivos. Os níveis de cruzamentos e a distribuição do pólen efetivo podem mudar de um evento de florescimento para outro e de uma população para outra, simplesmente como uma função da estrutura demográfica, fenologia e composição e abundância de polinizadores, sendo que mesmo em florestas sem distúrbios estas variações podem ocorrer (Degen *et al.*, 2004). Essas diferenças também podem ser causadas por variações climáticas, alterando o comportamento dos polinizadores ou a fenologia de florescimento das plantas.

TABELA 4 – Estimativas de parâmetros do sistema de reprodução de três locos isoenzimáticos (*Pgi-2*, *Idh-1* e *6Pgdh2* de *T. cassinoides*. (Entre parênteses está o intervalo de confiança do erro das estimativas a 95% de probabilidade).

Parâmetro	2001		2004	
	Não explorada	Explorada	Não explorada	Explorada
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	1,000 (0,000)	0,872 (0,111)	0,923 (0,024)	1,000 (0,000)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,997 (0,002)	0,876 (0,089)	0,910 (0,019)	0,994 (0,001)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_s$	0,003 (0,002)	-0,004 (0,053)	0,013 (0,009)	0,006 (0,003)
Correlação de autofecundação: r_s	0,106 (0,000)	0,079 (0,015)	0,114 (0,021)	0,102 (0,000)
Correlação multiloco de paternidade: r_p	0,501 (0,079)	0,065 (0,007)	0,122 (0,021)	0,090 (0,005)

Um dos efeitos diretos da exploração é a redução no número de indivíduos reprodutivos por área e, conseqüentemente, da densidade de flores na área. Existem algumas evidências de que certas taxas de exploração podem alterar o comportamento dos polinizadores e, portanto, o sistema de reprodução. White *et al.* (2002) detectaram na espécie arbórea tropical *Swietenia humillis*, que alguns fragmentos recebiam grande contribuição de pólen vindo de mais de 4,5 km de distância, interpretando estes resultados como um

fator positivo da fragmentação que teria favorecido a longa distância de polinização pela abertura de espaço, favorecendo o vôo dos polinizadores. No presente estudo, a maior taxa de cruzamento na população explorada pode ter sido gerada pela redução na densidade populacional e, por conseqüência, na densidade de florescimento da população. Essa situação pode ter favorecido o movimento dos polinizadores na área, ao mesmo tempo em que forçou a visitação dos mesmos a um maior número de árvores à procura de néctar.

A estimativa da taxa de cruzamento uniloco para análise com sete locos (TABELA 3) foi menor do que a multiloco tanto na população não explorada ($\hat{t}_s = 0,979$) como na explorada ($\hat{t}_s = 0,950$). Diferenças positivas entre as taxas de cruzamento multiloco e uniloco têm sido interpretadas como indicativas de cruzamento entre parentes (Ritland & Jain, 1981). A diferença entre a estimativa multiloco e uniloco na população não explorada foi de 0,044 e na explorada de 0,046, sendo ambas estatisticamente diferentes de zero, mas não diferentes entre si, indicando que parte dos cruzamentos ocorreram entre árvores parentes. Tal resultado já havia sido relatado no estudo anterior realizado por Sebbenn *et al.* (2001) e era esperado, visto que, ambas as populações apresentam forte estrutura genética espacial, conforme estudos da distribuição espacial de genótipos nessas populações (Cavallari-Neto *et al.*, 2004). Cruzamentos endogâmicos têm como conseqüência a geração de endogamia biparental, que por sua vez, pode causar depressão por endogamia biparental, embora esta seja considerada, em geral, menos drástica do que a endogamia gerada por autofecundação. A autofecundação gera 50% de endogamia por geração, enquanto o cruzamento entre parentes gera endogamia igual a coancestria entre os parentais cruzados. Por exemplo, a autofecundação de uma planta não endogâmica gera 50% de endogamia na sua descendência, já o cruzamento entre dois meios-irmãos não endogâmicos gera 12,5% de endogamia na descendência, e o cruzamento entre dois irmãos-completos não endogâmicos gera 25% de endogamia na descendência.

3.4 Índice de Fixação

O índice de fixação foi significativamente diferente de zero na geração adulta e nas progênies da população explorada (0,188), sugerindo que esta não esteja em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Na geração adulta observou-se um excesso de homozigotos e nas progênies um excesso de heterozigotos (TABELA 3). Em geral, em muitos trabalhos o que se observa é justamente o oposto, ou seja, excesso de heterozigotos na geração adulta e de homozigotos nas progênies, explicando-se este padrão pela seleção contra endogâmicos entre a fase de plântula e a fase adulta (Sebbenn *et al.*, 2000, 2001; Souza *et al.*, 2003).

Uma explicação para isso poderia ser a presença de alelos nulos nos adultos, aumentado a proporção de homozigose nessa geração. Outras explicações poderiam ser erro de tipagem, deriva amostral (visto que foram avaliadas apenas dez plantas por progênie) e seleção para homozigotos.

3.5 Cruzamentos Correlacionados

As estimativas da correlação de autofecundação (\hat{r}_s) foram baixas (TABELA 3), mas significativamente diferentes de zero nas populações não explorada (0,080) e explorada (0,097), sugerindo que existe variação na taxa de cruzamento entre plantas individuais. A variação na taxa de cruzamento entre plantas pode ser causada por variação genética para auto-incompatibilidade (Sun & Ritland, 1998), assincronismo no florescimento e ausência de vetores de polinização, aumentando a taxa de autofecundação ou de cruzamento de algumas plantas.

As estimativas da correlação de paternidade (TABELA 3), foram altas e significativamente diferentes de zero nas populações não explorada ($\hat{r}_p = 0,570$) e explorada ($\hat{r}_p = 0,371$), mostrando que grande parte das progênies originadas de cruzamentos foi gerada por cruzamentos biparentais, ou seja, são irmãos-completos. Tais resultados explicam parte dos desvios de cruzamentos aleatórios observados na comparação das frequências alélicas do pólen e dos óvulos. Se os cruzamentos fossem perfeitamente aleatórios, praticamente 100% das progênies seriam meios-irmãos. Os desvios dessa pressuposição são claramente observados na composição da estrutura das progênies. Na população não explorada 7,7% das progênies são irmãos de autofecundação, 52,6% são irmãos-completos e 39,7% são meios-irmãos. Na população explorada 0,4% são de irmãos de autofecundação, 37% irmãos-completos e 62,6% meios-irmãos (TABELA 3). Conseqüentemente o coeficiente de coancestria é maior do que o esperado em meios-irmãos (0,125). Na população não explorada o coeficiente de coancestria médio foi de 0,207 e na explorada de 0,172, portanto, foram, respectivamente, 39,6 e 27,3% superiores aos esperados em progênies derivadas de populações perfeitamente panmíticas.

Embora as estimativas da correlação de paternidade sejam altas, elas foram significativamente diferentes entre as populações não explorada e explorada, conforme pode ser observado pelo erro padrão associado (TABELA 3). A menor estimativa da correlação de paternidade na população explorada ($\hat{r}_p = 0,371$) pode ser provavelmente atribuída ao processo de exploração, o qual gerou o aumento na distância entre coespecíficos reprodutivos e reduziu a densidade de flores na população, obrigando os polinizadores a percorrer maiores distâncias para obter néctar. Maior correlação de paternidade na população não explorada, em relação à manejada, também foi observada por Sebbenn *et al.* (2001). Os autores detectaram correlação de paternidade de 0,547 na população não explorada e de 0,295 na explorada, sendo significativa a diferença entre elas. Altas correlações de paternidade também são relatadas em outros estudos com espécies arbóreas tropicais, como: *Esenbeckia leiocarpa* (Seoane *et al.*, 2001), *Symphonia globulifera* (Degen *et al.*, 2004), *Eschweilera ovata* (Gusson *et al.*, 2005).

Altas estimativas de correlação de paternidade implicam que um número limitado de árvores participou da polinização durante o processo de reprodução. É possível estimar o número médio de indivíduos que efetivamente polinizaram as árvores maternas, ou o número provável de indivíduos que contribuíram com pólen no evento de reprodução de uma árvore-materna. As estimativas para as populações foram muito baixas, em torno de dois a três polinizadores por árvore. Em prévio estudo com *T. cassinoides*, foram detectadas igualmente duas a três árvores efetivamente polinizando (Sebbenn *et al.*, 2001). Contudo, é possível observar que na população explorada o número médio de árvores polinizadoras foi maior do que na população não explorada. Isso reforça a hipótese de que o processo de exploração, por reduzir a densidade de plantas, poderia estar favorecendo o movimento dos polinizadores e forçando a visita a um maior número de árvores, visto que os indivíduos remanescentes são os de menor porte, o que em geral está diretamente associado a uma menor produção de flores.

Outros estudos realizados com espécies arbóreas tropicais têm observado resultados semelhantes; em *Myracrodon urundeuva* (Moraes *et al.*, 2004) foram detectados de dois a três polinizadores efetivos; em *Senna multijuga* (Ribeiro & Lovato, 2004) foram detectados

aproximadamente quatro polinizadores efetivos e em *E. ovata* (Gusson *et al.*, 2005) foram detectadas de duas a três árvores efetivamente polinizando.

3.6 Tamanho Efetivo de Variância

Foram ressaltados os altos níveis de coancestria observados entre plantas dentro de progênies em ambas as populações (TABELA 3). Isso significa que as sementes dispersas a cada evento reprodutivo apresentam um alto parentesco entre si. Tal informação é importante para programas de melhoramento, conservação genética e coleta de sementes para recuperação ambiental. Em programas de melhoramento, o coeficiente de coancestria é utilizado para calcular a correlação de parentesco entre plantas dentro de progênies, que por sua vez é a base para o cálculo da variância genética aditiva e, portanto, dos coeficientes de herdabilidade e ganhos esperados na seleção. Em programas de conservação genética e coleta de sementes, o coeficiente de coancestria é fundamental para estimar o tamanho efetivo de variância. O tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) mede a representatividade genética de uma população, em função de alterações nas frequências alélicas entre gerações, devido a efeitos de deriva genética no processo de reprodução. Em uma população idealizada (tamanho infinito, sem seleção, mutação e migração) de cruzamentos aleatórios, o tamanho efetivo de variância de uma única progênie é quatro (4). Desvios das pressuposições da população idealizada e panmítica reduzem o tamanho efetivo de variância. Na população não explorada o tamanho efetivo de variância foi estimado em 2,23 e na explorada em 2,65. O menor tamanho efetivo de variância na população não explorada se deve à maior taxa de autofecundação e aos cruzamentos biparentais (irmãos-completos).

O conhecimento do tamanho efetivo de variância é particularmente importante para determinar tamanhos amostrais para os mais diversos fins, como, por exemplo, formar populações base para programas de melhoramento e conservação genética, e determinar o número de árvores matrizes para a coleta de sementes para restauração ambiental. Isso pode ser executado dividindo-se o tamanho efetivo alvo pelo tamanho efetivo de variância (Sebbenn, 2002, 2003). Por exemplo, na coleta de sementes nessas populações seria necessário amostrar sementes entre 38 a 45 árvores matrizes para reter o tamanho efetivo alvo de 100, considerando qualquer uma das finalidades anteriormente ressaltadas.

3.7 Considerações Finais

Os resultados da diversidade genética e do sistema de reprodução de *T. cassinoides*, em geral, não revelaram grandes diferenças entre as populações não explorada e explorada. Na realidade, em termos de sistema de reprodução, os resultados foram mais favoráveis na população explorada, relativamente à não explorada, apresentando tendência a maior aleatoriedade nos cruzamentos na população explorada. Essa observação contrapõe os prévios resultados obtidos por Sebbenn *et al.* (2001). Contudo, essas diferenças podem ter ocorrido devido às variações naturais no evento reprodutivo, causadas por variações na fenologia de florescimento e comportamento dos polinizadores. Assim, novos estudos devem ser desenvolvidos para entender as conseqüências da exploração nos níveis de diversidade genética e sistema de reprodução de *T. cassinoides*, a longo prazo, baseados em modelos genético-ecológicos de simulações, como o modelo de simulação Eco-gene (Degen *et al.*, 1996). O uso de modelagem e simulação permitir conhecer quais serão as implicações da exploração em 100, 200, 500 anos ou mais. O modelo Eco-gene é um modelo de simulação que combina elementos da genética de populações, dinâmica demográfica e modelos de crescimento e exploração florestal. As simulações são realizadas com base em dados reais de genética (dados de locos microssatélites ou isoenzimas), demografia (localização espacial, densidade, sobrevivência, recrutamento e idade), ecologia (tipo de polinizador, dispersão de sementes e pólen, etc.) e crescimento (incremento médio anual, DAP e altura máxima, etc.) obtidos de inventários contínuos em parcelas permanentes. O modelo pode ser testado com dados observados de genótipos codominantes de distribuição espacial conhecida, simulando diferentes processos como sobreposição de gerações, fluxo gênico, sistema de reprodução, fenologia de florescimento, dispersão de pólen e sementes, seleção, deriva genética, competição e cenários de exploração como ciclo, intensidade e diâmetro mínimo de corte (Degen *et al.*, 1996). O modelo tem sido recentemente utilizado para estudos do impacto de diferentes práticas de exploração florestal, fragmentação e análise dos efeitos da poluição sobre a estrutura genética de espécies arbóreas (Degen & Scholtz, 1998; Degen *et al.*, 2002). Por exemplo, Degen *et al.* (2002), utilizando o modelo de simulações Eco-gene, compararam os efeitos da exploração e fragmentação florestal sobre os níveis de diversidade genética de *Jacaranda copaiba*, uma espécie arbórea da Amazônia brasileira,

observaram que 150 anos após a exploração ocorreu uma significativa redução no tamanho efetivo reprodutivo das populações submetidas ao corte seletivo (68%) e fragmentação (79%), demonstrando que ambos os processos de intervenção humana tinham conseqüências negativas sobre a genética da espécie a longo prazo. O modelo Eco-gene representa o que há de mais avançado e moderno em termos de modelagem genética. Por isso, esse modelo é hoje o mais adequado para avaliação dos efeitos do corte seletivo de árvores e da fragmentação de espécies arbóreas nativas brasileiras, visto que, o Brasil explora florestas naturais e tem, atualmente, grande parte de suas florestas em estado avançado de fragmentação, como, por exemplo, as regiões Sul, Sudeste e Central do Brasil. O uso da modelagem Eco-gene permitirá delinear planos de manejo realmente sustentáveis a longo prazo e de estratégias que garantam a sobrevivência de espécies em condições de fragmentação.

4 CONCLUSÃO

A comparação de parâmetros de diversidade genética e sistema de reprodução, entre as populações não explorada e explorada, indica que a estrutura genética variou pouco entre estas, tendo a população explorada apresentado cruzamentos sensivelmente mais aleatórios do que a natural.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos funcionários da Estação Ecológica de Juréia-Itatins pelo suporte logístico e auxílio na amostragem de campo; a Rui Aparecido e Dauro Prado de Marco, pela ajuda no campo e aos estudantes de graduação em biologia, Maria Andréia Moreno e Gabriela Rocha Defavari, estagiárias do LARGEA/LCF/ESALQ/USP. Alexandre Magno Sebbenn e Paulo Yoshio Kageyama também agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa. Os autores também agradecem aos dois revisores anônimo pelas importantes sugestões feitas no prévio manuscrito e à Assistente Técnica de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes, pela revisão gramatical. O projeto foi financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, S. A. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins:** fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa - UFV, 1998. 574 p.

CABALLERO, A. Developments in the prediction of effective population size. **Heredity**, Lund, v. 73, p. 657-679, 1994.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras:** recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.

CAVALLARI-NETO, M. *et al.* Estrutura genética espacial em populações de *Tabebuia cassinoides* por locos isoenzimáticos. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 153-164, 2004.

CLAYTON, J.; TRETIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **Journal Fisheries Research Board Canadian**, Ottawa, v. 29, p. 1169-1172, 1972.

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

DAYANANDAN, S. *et al.* Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **Molecular Ecology**, Edinburgh, v. 8, p. 1585-1592, 1999.

DEGEN, B.; GREGORIUS, H. R., SCHOLTZ, F. ECO-GENE: a model for simulation studies on the spatial and temporal dynamics of genetic structures of tree populations. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, p. 323-329, 1996.

_____.; SCHOLTZ, F. Ecological genetics in forest ecosystems under stress as analyzed by the simulation by the simulation model Eco-gene. **Chemosphere**, Berlin, v. 36, p. 819-824, 1998.

_____.; ROUBIK, D.; LOVELESS, M. D. Impact of selective logging and forest fragmentation on the seed cohorts of an insect-pollinated tree: a simulation study. In: DEGEN, B.; LOVELESS, M. D.; KREMER, A. (Ed). **Modeling and experimental research on genetic process in tropical and temperate forest**. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2002. p. 108-119.

DEGEN, B.; BANDO, E.; CARON, H. Limited pollen dispersal and biparental inbreeding in *Symphonia globulifera* in French Guiana. **Heredity**, Lund, v. 93, p. 585-591, 2004.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess) Miers. **Revista Árvore**, Viçosa, 2005. (submetido)

HAMILTON, M. B. Tropical tree gene flow and seed dispersal. **Nature**, London, v. 401, p. 129-30, 1999.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis:** version 1.1 for Windows 95/NT. Disponível em: <<http://www.lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/>>. Acesso em: 29 nov. 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 252 p.

MANTOVANI, W. **Estrutura e dinâmica da floresta Atlântica na Juréia, Iguape.** 1993. 126 f. Tese (Livre Docência em Ecologia), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Correlated mating in dioecious tropical tree species, *Myracrodruon urundeuva* Fr. **All. Forest Genetics**, Zvolen, v. 11, n. 1, p. 53-59, 2004.

MURAWSKI, D. A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from canopy perspective. In: LOWMAN, M. D.; NADKARNI, N. M. (Ed.). **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p. 457-493.

_____.; GUNATILLEKE, I. A. U. N.; BAWA, K. S. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 8, p. 997-1002, 1994.

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

OBAYASHI, K. *et al.* Genetic diversity and outcrossing rate between undisturbed and selective logged forest of *Shorea curtissi* using microsatellite DNA analysis. **International Journal of Plant Science**, v. 163, n. 1, p.151-158, 2002.

SEBBENN, A. M.; GUSSON, E.; KAGEYAMA, P. Y. Consequências do manejo florestal no sistema de reprodução de *Tabebuia cassinoides* (Lamarck) A. P. de Candolle.

RAJORA, O. P.; PLUHAR, S. A. Genetic diversity impacts of forest fire, forest harvesting, and alternative reforestation practices in black spruce (*Picea mariana*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, p. 1203-1212, 2003.

RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, p. 418-424, 2004.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 4, p.848-859, 1989.

_____. **Multilocus mating system program MLTR**. Version 1.1. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 18 dez. 1997.

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

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 115-132, 2002.

_____. Número de populações para conservação genética *in situ* de espécies arbóreas. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 45-51, 2003.

_____. *et al.* Efeitos do manejo florestal sobre a estrutura genética de Caixeta - *Tabebuia cassinoides*, no Vale do Ribeira, SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 127-143, 2000.

_____. *et al.* Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v.13, n. 2, p.93-113, 2001.

_____.; SEOANE, C. E. S. Herança e ligação em isoenzimas de equilíbrio de ligação em locos isoenzimáticos de *Tabebuia cassinoides*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 137-145, 2004.

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

SOUZA, L. M. I.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em *Chorisia speciosa*. **Rev. Bras. de Bot.**, São Paulo, v. 26, n. 113-121, 2003.

SUN, M.; RITLAND, K. Mating system of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*), a successful colonizer in North America. **Heredity**, Lund, v. 80, p. 225-232, 1998.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis**. II. Methods for discrete population genetic data. Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in tropical dry Forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, Washington, D.C., v. 99, p. 2038-2042, 2002.

WORKMAN, P.; NISWANDER, J. L. Populations studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal Human Genetic**, Chicago, v. 22, p. 24-29, 1970.

YOUNG, A.; BOYLE, T. T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plant. **Tree**, Victoria, v. 11, n. 10, p. 100-106, 1996.

YOUNG, A. G.; BOYLE, T. J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A. G.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. J. **Forest conservation genetics**. 2000. p. 123-133.