

Sistema de reprodução em uma população base de *Jatropha curcas* LMating system in a base population of *Jatropha curcas* L

Patrícia Ferreira Alves¹, Alexandre Magno Sebbenn², Ricardo Oliveira Manoel¹,
José Cambuim¹, Marcela Aparecida de Moraes¹, Enes Furlani Junior³,
Thaís Yuriko Kuboyama Kubota¹, Silvelise Pupin¹ e Mario Luiz Teixeira de Moraes³

Resumo

O objetivo deste estudo foi investigar o sistema de reprodução de 30 progênies de uma população base de *Jatropha curcas* L, utilizando marcadores microssatélites. A população base foi estabelecida em forma de teste de progênies, em Selvíria-MS, utilizando o delineamento experimental de blocos casualizados, com 30 progênies, três repetições, cinco plantas por parcela, no espaçamento 3 x 2 m. Todas as árvores do teste foram amostradas para análise de microssatélites. A estimativa da taxa de cruzamento multiloco populacional foi alta, mas significativamente menor do que a unidade ($t_m = 0,888$) e variou entre as árvores matrizes de 0,645 a 0,986, o que demonstra que a taxa de autofecundação foi maior em algumas árvores. A estimativa da taxa de cruzamento entre parentes foi substancial e significativamente maior do que zero ($t_m - t_s = 0,426$), sugerindo que as populações de origem das progênies apresentam estrutura genética espacial. A correlação de paternidade foi alta e significativamente maior do que zero ($r_{p(m)} = 0,646$), indicando alta proporção de progênies de irmãos completos. O coeficiente de coancestria dentro de progênies foi superior ao esperado em progênies de meios irmãos ($\Theta = 0,237$) e o tamanho efetivo foi menor que o esperado em progênies originadas de populações panmíticas ($N_e = 2,03$). Portanto, a coleta de sementes para fins de melhoramento florestal, conservação genética *ex situ* e recuperação ambiental deve ser realizada em pelo menos 74 árvores matrizes.

Palavras-chave: Árvores tropicais; banco de germoplasma; biodiesel; microssatélites, pinhão-mansão.

Abstract

The aim of this study was to investigate the mating system of 30 progeny of a base population of *Jatropha curcas* L, using microsatellite markers. The base population was established as a progeny test in Selvíria-MS, using a randomized block design with 30 progenies, three replications of five plants per plot, spaced 3 x 2 m. All trees of the test were sampled for microsatellite analysis. The estimate of multilocus outcrossing rate was high, but significantly lower than unity ($t_m = 0.888$). The outcrossing rate varied among trees matrices from 0.645 to 0.986, which demonstrates that the selfing rate was higher in some trees. The estimated rate of mating among relatives was substantial and significantly higher than zero ($t_m - t_s = 0.426$), suggesting that the populations of origin of progenies may present spatial genetic structure. The paternity correlation was significantly higher than zero ($r_{p(m)} = 0.646$), indicating a high proportion of full-sib within progeny. The coefficient of coancestry within progeny was higher than expected in half-sib progeny ($\Theta = 0.237$) and the effective size was lower than expected in progenies originated from panmictic populations ($N_e = 2.03$). Therefore, to collect seeds for forest improvement, *ex situ* genetic conservation and environmental reforestation, seeds must be collected from at least 74 seed trees.

Keywords: Tropical trees; bank germplasm; biodiesel; microsatellites, *Jatropha*.

INTRODUÇÃO

O sistema de reprodução é um importante determinante da estrutura e diversidade genética das populações naturais, pois estabelece o padrão da união dos gametas para formar a próxima geração (LIENGSIRI et al., 1999). O co-

nhecimento 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 parentes-

¹Doutorando (a) em Sistemas de Produção. UNESP – Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho” / FEIS – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Caixa Postal 31 – CEP 15385-000, Ilha Solteira, SP. E-mail: patyferreiraalves@bol.com.br.

²Pesquisador Doutor. IF - Instituto Florestal de São Paulo. Caixa Postal 1322 - CEP 01059-970, São Paulo, SP. E-mail: alexandresebbenn@yahoo.com.br.

³Professor Titular. UNESP – Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho” / FEIS – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Caixa Postal 31 – CEP 15385-000, Ilha Solteira, SP.

co, a endogamia e, portando o tamanho efetivo das progênies (SEBBENN, 2006). Assim, tal conhecimento é básico para determinar o número de árvores matrizes para a coleta de sementes (SEBBENN, 2002; 2006). Estudos baseados em marcadores genéticos, em especial os codominantes como isoenzimas e microssatélites tem mostrado que grande maioria das espécies arbóreas tropicais apresentam taxa de cruzamento alta ($t > 0,8$), embora parte destes cruzamentos ocorram entre indivíduos parentes e são correlacionados sistema de reprodução de espécies arbóreas (SEBBENN et al., 2000; COLLEVATTI et al., 2001; SEBBENN, 2002; 2006; MORAES et al., 2007; BARREIRA et al., 2006; LACERDA et al., 2008; GAINO et al., 2010; FERES et al., 2012; MANOEL et al., 2012; MORI et al., 2013). Portanto, progênies de polinização aberta são compostas por diferentes graus de parentesco, como meios irmãos, irmãos completos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e cruzamentos.

O sistema de reprodução das espécies arbóreas pode ser medido como a proporção de sementes que resultam de cruzamentos ou de autofecundação (MURAWSKI; HAMRICK, 1991). Em sementes providas de cruzamento, a reprodução pode ser medida como a proporção de sementes provenientes do mesmo doador de pólen (cruzamento correlacionado) ou de doadores de pólen diferentes. Para isto, marcadores genéticos têm sido utilizados de forma eficiente para elucidar a taxa de cruzamento (ou autofecundação) em um conjunto de progênies de polinização livre, permitindo a avaliação do produto final do ciclo de dispersão de pólen (ASHLEY, 2010).

Estudos tem mostrado também que o sistema de reprodução em árvores tropicais pode ser afetado pelo tipo de polinização (animal, vento), densidade de árvores reprodutivas das populações, variação individual na fenologia reprodutiva, corte seletivo de árvores e fragmentação florestal (MURAWSKI; HAMRICK, 1991; QUESAIDA et al., 2001; CASCANTE et al., 2002; FUCHS et al., 2003; LOWE et al., 2005; AGUILAR et al., 2008; ECKERT et al., 2009; CARNEIRO et al., 2009; MORAES; SEBBENN, 2011; FERES et al., 2012; MANOEL et al., 2012; MORI et al., 2013).

Recentemente ganhou atenção especial para produção de biodiesel o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) e espalhou-se além de seu centro da origem para países tropicais e subtropicais por causa de sua resistência à seca, propagação

fácil, teor de óleo elevado, crescimento rápido, adaptação a várias condições agroclimáticas e usos múltiplos da planta (HELLER, 1996) e seu cultivo requer simples tecnologia e moderado investimento de capital (BASHA; SUJATHA, 2007). O pinhão-manso é uma planta produtora de óleo com todas as qualidades necessárias para ser transformado em biodiesel. Além de perene e de fácil cultivo, apresenta boa conservação da semente colhida, podendo se tornar grande produtora de matéria prima como fonte opcional de combustível. Esta é uma cultura que pode se desenvolver nas pequenas propriedades, com a mão-de-obra familiar disponível, como acontece com a cultura da mamona, na Bahia, sendo mais uma fonte de renda para as propriedades rurais da região Nordeste (PURCINO; DRUMMOND, 1986). Embora seja uma planta conhecida e cultivada no continente americano, desde a época pré-colombiana, e esteja disseminada em todas as regiões tropicais e até em algumas áreas temperadas, o *J. curcas* ainda encontra-se em processo de domesticação e somente nos últimos 30 anos começou a ser mais pesquisado (SATURNINO et al., 2005). Para estabelecimento de programas de melhoramento com a espécie implica no conhecimento detalhado do seu sistema de reprodução, como anteriormente comentado, o que pode ser feito utilizando marcadores genéticos como os microssatélites. Marcadores microssatélites foram desenvolvidos para *J. curcas* por Sun et al. (2008), na China.

O presente trabalho teve por objetivo investigar o sistema de reprodução de árvores matrizes que deram origem a uma população base de *J. curcas*, utilizando marcadores microssatélites. Também foi estimado o parentesco e o tamanho efetivo das progênies da respectiva população base.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem e delineamento experimental

A população base de *J. curcas* foi estabelecida na forma de teste de progênies. As sementes foram coletadas de polinização aberta em árvores de plantios experimentais e comerciais da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). O teste foi estabelecido em maio de 2010 na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia - FEPE/UNESP, localizada no município de Selvíria-MS. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 30 progênies, três repetições,

cinco plantas por parcela, no espaçamento 3 x 2 m. Realizou-se uma adubação de 135 g da fórmula 08-28-16 e a irrigação foi na cova. Todas as árvores do teste foram amostradas para análise de microssatélites.

Análise molecular

Para a caracterização molecular foram utilizadas folhas jovens coletadas no teste de progênies. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em gelo até a chegada ao Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura (LGPS), Campus II da FEIS/UNESP. No laboratório, as folhas foram acondicionadas em câmara fria até o momento da extração.

Para extração de DNA, cerca de 150 mg de folhas foram colocadas em microtubos de 2,0 mL e maceradas em nitrogênio líquido com auxílio de pistilo, adicionando-se, em seguida, 750 µL de tampão de extração, de acordo com método CTAB 2% (2% de CTAB; EDTA - 0,5M; pH 8,0; Tris-HCl - 1M; pH 8,0; NaCl 5M, 1% de PVP-40, 0,2% -mercaptoetanol, proteinase-K) proposto por Doyle e Doyle (1990) com modificações. As amostras foram incubadas em banho-maria a 65° C por cerca 60 minutos, invertendo os microtubos a cada 10 min. Após esta fase, foram adicionados 500 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) em cada amostra, em seguida foram homogeneizadas por 8 min. As amostras foram centrifugadas por 10 min e a 10.000 rpm. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Para precipitação do DNA, adicionou-se 500 µL de isopropanol gelado ao sobrenadante, incubando-se por 30 min em freezer a -20° C. Para lavagem do *pellet*, os tubos foram, então, submetidos a uma centrifugação por 10 min a 10.000 rpm. O sobrenadante foi retirado, com cuidado, invertendo-se o microtubo em um béquer. Adicionou-se ao *pellet* precipitado 500 µL de etanol 70% gelado, centrifugando por cinco minutos a 12.000 rpm, descartando novamente o sobrenadante (etanol), repetiu mais uma vez com etanol a 70%, em seguida uma nova purificação com etanol absoluto gelado retirou o máximo possível do etanol. O *pellet* foi seco na temperatura ambiente e ressuspenso com 50 µL de TE (100 mM Tris/10 mM EDTA) incubando a 37° C em banho maria por 30 minutos e guardadas a -20° C. Para verificação da qualidade do DNA foi utilizado um minigel de agarose 0,8%, corado com GEL Red® em tampão TBE 1X (Tris-Boro-EDTA) por eletroforese em cuba horizontal. A quanti-

dade do DNA foi visualizada e fotografada sob luz ultravioleta, em transiluminador *Loccus Biotechnology*®, modelo L-PIX-HE.

A caracterização do DNA genômico foi feita com base em locos microssatélites que foram amplificados por PCR em um volume final de 12 µL, utilizando GoTaq® Colorless Master Mix, contendo 6,0 µL de GoTaq® Colorless Master Mix (2x), 0,9 µM de *primer* (F e R), 1,6 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 94° C durante 5 min., seguido de 30 ciclos de amplificação (94° C [1min.], 2 min. de anelamento a uma temperatura específica de cada *primer*, 72° C de extensão da cadeia por 1 min.) e um extensão final a 72° C por 7 min. As amplificações foram realizadas usando um conjunto de *primers*, JC1, JC2, JC3, JC4, JC5, JC7, JC8 e JC9, descritos em Sun et al. (2008) para a espécie. 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 amostras. As leituras foram feitas pelo genotipador automático PROSize® 2.0.

Análise do sistema de reprodução

A análise do sistema de reprodução foi realizada com base nos modelos misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989) e utilizando o programa MLTR (RITLAND, 2002). As estimativas foram realizadas em nível populacional e individual para cada progênie. Os parâmetros estimados foram: o índice de fixação das árvores maternas (F_m), taxa de cruzamento multiloco (t_m), taxa de cruzamento uniloco (t_z), taxa de cruzamento entre indivíduos parentes ($t_m - t_z$), correlação de autofecundação (r_z) e correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). O intervalo de confiança das estimativas foi obtido por 1.000 reamostragens *bootstraps*. As unidades de reamostragem foram às progênies na análise populacional e plantas dentro de progênies nas análises individuais por pro-

gênie. Estes parâmetros foram utilizados para estimar outros parâmetros como: número efetivo de árvores polinizadoras ($N_{ep} = 1/r_{p(m)}$) e o coeficiente médio de coancestria (Θ) dentro de progênies, calculado pela seguinte expressão: $\Theta = 0.125(1 + F_m)[4s + (t_m + st_m r_z)(1 + r_{p(m)})]$, em que s é a taxa de autofecundação ($s = 1 - t_m$) (SEBBENN, 2002). O tamanho efetivo médio dentro de progênie (N_e) foi estimado seguindo Cockerham (1969):

$$N_e = \frac{0,5}{\Theta \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+F_o}{2n}}$$

em que, n é o tamanho amostral e F_o é o índice de fixação dentro de progênies. Os níveis de endogamia dentro das progênies foram estimados utilizando o índice de fixação (F_o) e o programa SPAGEDI 1.3 (HARDY; VEKEMANS, 2002). O número de árvores matrizes (m) para a coleta de sementes foi calculado assumindo que o objetivo é reter na amostra total o tamanho efetivo de referência ($N_{e(\text{referência})}$) de 150, $m = N_{e(\text{referência})} / N_e$ (SEBBENN, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Taxa de cruzamento

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco em nível populacional (Tabela 1) foi alta ($t_m = 0,888$), mas significativamente menor do que a unidade, indicando que as árvores das populações naturais e comerciais onde as sementes foram coletadas se reproduziram preferencialmente por cruzamentos, embora tenha ocorrido algumas autofecundações ($s = 1 - t_m = 0,112$). Contudo, foi observada uma substancial variação na taxa de cruzamento entre as árvores matrizes (variando 0,645 a 0,984), o que demonstra que a taxa de autofecundação foi maior em algumas árvores e indica que a espécie apresenta sistema misto de reprodução (Tabela 2). Vinte nove das 30 estimativas da taxa de cruzamento em nível de progênies foram significativamente menores do que a unidade, logo apresentaram algum grau de autofecundação. Esta variação é confirmada pela estimativa da estimativa da correlação de autofecundação (r_z), a qual foi alta (0,937). Considerando o fato de que a taxa de cruzamento foi estimada em progênies estabelecidas no campo, logo apenas com sementes que germinaram, e possível que esta taxa esteja superestimada, visto que algumas sementes originadas de autofecundação, por não germinarem devido a possível ocorrência de endogamia (depressão por endogamia). Hufford

e Hamrick (2003), estudando o sistema de reprodução na espécie arbórea tropical *Platipodium elegans* observaram este fenômeno, ou seja, menor taxa de cruzamento em sementes coletadas imediatamente após a fertilização ($t_m = 0,79$), em comparação a estimativas baseadas em plântulas germinadas ($t_m = 0,91$). Os autores atribuíram esta diferença na taxa de cruzamento entre os dois estágios aos efeitos da depressão por endogamia, que pode ter ocorrido também no presente estudo com *J. curcas*. Por sua vez, a variação observada na taxa de cruzamento entre as árvores matrizes (progênies) pode estar associada ao fato de que a depressão por endogamia só ocorre se a árvore matriz for portadora de genes letais, semiletais ou deletérios e indivíduos não portadores de tais genes podem gerar descendentes saudáveis por autofecundação, visto a endogamia não desencadear a depressão por endogamia.

A estimativa da taxa de cruzamento obtida foi substancialmente maior do que a estimada por Bressan et al. (2013), estudando outra população de *J. curcas* ($t_m = 0,683$). Como o sistema de reprodução é afetado por fatores genéticos e ambientais, a taxa de cruzamento pode variar entre frutos de uma planta, entre árvores de uma população, entre eventos reprodutivos e entre populações, logo a diferença entre os estudos não é algo inesperado. Por exemplo, diferenças na taxa de cruzamento entre populações têm sido relatadas em *Cariniana legalis* (SEBBENN et al., 2000), *Senna multijuga* (RIBEIRO; LOVATO, 2004), *Mimosa scabrella* (SOBIERAJSKI et al., 2006) e *Peltophurum dubium* (MORI et al., 2013), entre muitos outros estudos. Como observado em Bressan et al. (2013), que também detectou em seu estudo alta variação na taxa de cruzamento individual, variando entre árvores matrizes de 0,21 a 1,0, confirmando o processo dinâmico do sistema de reprodução da espécie, o que pode gerar progênies com maior endogamia do que outras.

Ressalta-se que a reprodução à partir de altas taxas de cruzamento, como a que deu origem à presente população base favorece a ocorrência de variabilidade genética nas progênies, devido ao fato que os cruzamentos implicam na recombinação de alelos dos parentais nas progênies. Em termos práticos, este resultado sugere a possibilidade de se detectar substancial variação genética entre progênies, quando da estimativa de parâmetros genéticos quantitativos na respectiva população base, o que será realizado quando as respectivas progênies estiverem com idade mais avançada e produzindo frutos.

Tabela 1. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em nível de população.**Table 1.** Estimates of mating system parameters at population level.

Parâmetro	Media ± EP
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,888 (0,842 (0,944)
Taxa de cruzamento uniloco: t_z	0,462 (0,433 (0,525)
Taxa de cruzamento entre parentes:	0,426 (0,409 ± 0,419)
Correlação de autofecundação: r_z	0,937 (0,771 ± 0,999)
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,646 (0,548 ± 0,684)
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	1,5 (1,5 ± 1,8)
Coancestria média dentro de progênes: Θ	0,237 (0,208 ± 0,256)
Tamanho efetivo de variância: N_e	2,03 (1,89 ± 2,29)
Número de matrizes: m	74 (65 ± 79)

Sendo: m é o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter o tamanho efetivo de 150. \pm EP é o erro padrão da media a 95% de probabilidade

Tabela 2. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em nível de progênes. t_m é a taxa de cruzamento multilocos; $t_m - t_z$ é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é a correlação multilocus de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de pais polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênie; N_e é o tamanho efetivo da progênie; \pm erro padrão da média 95% de probabilidade.**Table 2.** Estimates of mating system parameters at the progeny level. t_m is the multilocus outcrossing rate; $t_m - t_z$ is the rate of mating among relatives; $r_{p(m)}$ is the multilocus paternity correlation; N_{ep} is the effective number of pollen donors; Θ is the coancestry within progenies; N_e is the effective size within progenies; \pm EP is the standard error at 95% of probability.

Progênie	$t_m \pm EP$	$t_m - t_z \pm EP$	$r_{p(m)} \pm EP$	N_{ep}	Θ	N_e
1	0,732±0,109*	0,079±0,100	0,435±0,051*	2,3	0,230	2,05
2	0,979±0,003*	0,231±0,029*	0,349±0,064*	2,9	0,172	2,65
3	0,982±0,000*	0,283±0,031*	0,555±0,082*	1,8	0,196	2,36
4	0,767±0,101*	0,083±0,088	0,603±0,061*	1,7	0,234	2,02
5	0,920±0,067*	0,207±0,049*	0,574±0,089*	1,7	0,207	2,26
6	0,884±0,077*	0,133±0,078*	0,284±0,056*	3,5	0,183	2,51
7	0,872±0,080*	0,179±0,079*	0,432±0,066*	2,3	0,200	2,32
8	0,786±0,101*	-0,097±0,000*	0,200±0,066*	5,0	0,200	2,33
9	0,883±0,139	0,057±0,122	0,287±0,067*	3,5	0,184	2,50
10	0,986±0,000*	0,233±0,023*	0,356±0,065*	2,8	0,172	2,66
11	0,645±0,115*	-0,105±0,000*	0,378±0,079*	2,6	0,249	1,91
12	0,986±0,000*	0,226±0,023*	0,424±0,082*	2,4	0,180	2,55
13	0,984±0,004*	0,186±0,026*	0,294±0,062*	3,4	0,165	2,76
14	0,908±0,065*	0,084±0,068*	0,244±0,070*	4,1	0,174	2,62
15	0,976±0,003*	0,112±0,018*	0,209±0,068*	4,8	0,156	2,89
16	0,875±0,080*	0,094±0,077*	0,319±0,065*	3,1	0,189	2,45
17	0,833±0,092*	0,098±0,087*	0,277±0,064*	3,6	0,194	2,39
18	0,970±0,003*	0,158±0,037*	0,189±0,057*	5,3	0,155	2,91
19	0,836±0,090*	0,143±0,077*	0,437±0,073*	2,3	0,208	2,25
20	0,781(0,109*	0,083(0,091	0,386(0,067*	2,6	0,215	2,18
21	0,984(0,004*	0,205±0,028*	0,452±0,087*	2,2	0,184	2,51
22	0,887±0,074*	0,102±0,070*	0,311±0,067*	3,2	0,185	2,49
23	0,982±0,000*	0,269±0,043*	0,285±0,057*	3,5	0,164	2,77
24	0,982±0,000*	0,231±0,042*	0,303±0,052*	3,3	0,166	2,74
25	0,775±0,153*	0,076±0,123	0,427±0,071*	2,3	0,220	2,14
26	0,900±0,071*	0,151±0,059*	0,289±0,058*	3,5	0,181	2,54
27	0,777±0,103*	0,021±0,114	0,302±0,066*	3,3	0,210	2,23
28	0,949±0,031*	0,167±0,042*	0,266±0,051*	3,8	0,168	2,71
29	0,697±0,112*	-0,106±0,000*	0,382±0,063*	2,6	0,235	2,01
30	0,984±0,004*	0,264±0,031*	0,411±0,078*	2,4	0,179	2,57

* P < 0,05.

Taxa de cruzamento entre parentes

A estimativa da taxa de cruzamento uniloco ($t_z = 0,462$) foi significativamente menor que a multiloco (Tabela 1), o que resultou em uma substancial e significativa diferença entre t_m e t_z ($t_m - t_z = 0,426$) e indica a ocorrência de cruzamentos entre parentes. Em nível de progênies (Tabela 2) observa-se o mesmo resultado e 23 árvores matrizes cruzaram com árvores parentes como observado na estimativa do erro padrão da média. Bressan et al. (2013) estudando o sistema de reprodução de outra população de *J. curcas* também detectou cruzamento entre parentes ($t_m - t_z = 0,347$), o que juntamente com os resultados do presente estudo, sugere ausência de auto-incompatibilidade na espécie. O cruzamento entre parentes é um forte indicativo de que as populações de origem das progênies apresentam estrutura genética espacial, ou seja, indivíduos parentes ocorrem espacialmente próximos dentro das populações. Por outro lado, como a taxa de cruzamentos entre parentes foi maior do que a de autofecundação, isto sugere que o cruzamento entre parentes tem um menor poder de desencadear a depressão por endogamia do que a autofecundação.

Cruzamentos correlacionados

A proporção de irmãos completos dentro das progênies foi medida pela correlação de paternidade, a qual mede a proporção de indivíduos de cruzamentos que foram gerados pelas mesmas árvores genitoras. Neste trabalho, a estimativa foi alta e significativamente diferente de zero ($r_{p(m)} = 0,648$), indicando alta proporção de progênies de irmãos completos (Tabela 1). O número médio efetivo de árvores doadoras de pólen (N_{ep}) foi de apenas 1,5 (Tabela 1), variando entre progênies de 1,7 a 5,3 (Tabela 2). Contudo, os valores observados foram maiores do que os detectados por Bressan et al. (2013), para a uma população da espécie ($N_{ep} = 1$), indicando que as progênies eram compostas apenas por irmãos completos. Ambos os estudos indicam que progênies de polinização aberta da espécie apresentam diferentes graus de parentesco como meios irmãos, irmãos completos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e cruzamentos.

Coancestria dentro de progênies

Como consequência da autofecundação e alta correlação de paternidade, o coeficiente de coancestria dentro de progênies foi superior ao esperado em progênies de meios irmãos ($\Theta =$

0,125), com média populacional de 0,237 (Tabela 1), variando entre progênies de 0,155 a 0,249 (Tabela 2). Os resultados observados têm implicações práticas para o melhoramento florestal. Devido ao fato de que as progênies não serem compostas apenas por meios irmãos, modelos estatísticos genéticos para estimar herdabilidades e ganhos esperados com a seleção, devem considerar a existência desses diferentes parentescos dentro das progênies para não superestimar tais parâmetros (SEBBENN, 2002; 2006). Este estudo sugere a necessidade de utilizar o coeficiente de parentesco de 0,474 ($r = 2\Theta$) ao invés de 0,25 nas estimativas de parâmetros genéticos. Similar resultado têm sido relatado em muitos outros estudos do sistema de reprodução de espécies arbóreas (SEBBENN et al., 2000; SEBBENN, 2002; 2006; MORAES et al., 2007; BARREIRA et al., 2006; LACERDA et al., 2008; GAINO et al., 2010; FERES et al., 2012; MANOEL et al., 2012; MORI et al., 2013).

Tamanho efetivo dentro de progênies

Em virtude da coancestria dentro de progênies ser maior do que a esperada em progênies de meios irmãos, a estimativa do tamanho efetivo foi maior que a esperada em progênies originadas de polinização aberta de populações panmíticas ($N_e = 4$), com média populacional de 2,03 (Tabela 1), variando entre progênies de 1,91 a 2,91 (Tabela 2). Tais resultados têm implicações para a coleta de sementes para fins de melhoramento florestal, conservação genética *ex situ* e recuperação ambiental (SEBBENN, 2002; 2006). Em virtude disto, para serem obtidas amostras de sementes com o tamanho efetivo de 150 para os fins citados, será necessária a coleta de sementes de pelo menos 74 árvores matrizes (Tabela 1). Contudo, é importante ressaltar que as sementes devem ser coletadas de árvores matrizes que não sejam parentes, que não se cruzaram entre si e que receberam um conjunto de pólen não sobreposto, para evitar a ocorrência de parentescos entre sementes de diferentes árvores matrizes, o que reduziria o tamanho efetivo retido nas amostras para valores menores do que 150.

CONCLUSÕES

A população de *J. curcas* tem sistema misto de reprodução, embora apresenta produção de sementes preferencialmente por cruzamentos, sendo os cruzamentos predominantemente correlacionados.

Modelos estatísticos genéticos para estimar herdabilidades e ganhos esperados com a seleção devem utilizar o coeficiente de parentesco de 0,474 ao invés de 0,25.

Para fins de melhoramento florestal, conservação genética *ex situ* e recuperação ambiental as sementes devem ser coletadas de um grande número de árvores matrizes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; YVONNE HERRERIAS, D.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 17, n. 24, p. 5177-5188, 2008.

ASHLEY, M.V. Plant parentage, pollination, and dispersal: How DNA microsatellite have altered the landscape. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 29, p.148-161, 2010.

BARREIRA, S.; SEBBENN, A. M.; SCOLFORO, J. R. S.; KAGEYAMA, P. Y. Conseqüências da exploração florestal sobre a diversidade genética e o sistema de reprodução de uma espécie arbórea tropical de alta densidade populacional, *Eremantus erythropappus*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 71, p. 119-130, 2006.

BASH, S D; SUJATHA, M. Inter and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. **Euphytica**, Netherlands, v.156, n. 3, p. 375-386, 2007.

BRESSAN, E. A.; SEBBENN, A. S.; FERREIRA, R. R.; LEE, T. S. G.; FIGUEIRA, A. BRESSAN, E.A.; SEBBENN, A.M.; FERREIRA, R.R.; LEE, T.S.G.; FIGUEIRA, A. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) exhibits a mixed mating system, high correlated mating and apomixis. **Tree Genetics & Genomes**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 1089-1097, 2013.

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

CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J. J.; FUCHS, E. A. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, Boston, v. 16, n. 1, p. 137-147, 2002.

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

COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPPAGLIA, D.; HAY, J. D. High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliensis*, and endangered tropical tree species. **Heredity**, London, v. 86, p. 60-67, 2001.

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

ECKERT, C. G.; KALISZ, S.; GEBER, M. A.; SARGENT, R.; ELLE, E.; CHEPTOU, P. O.; GOODWILLIE, C.; JOHNSTON, M. O; KELLY, J. K.; MOELLER, D. A.; PORCHER, E.; REE, R. H.; VALLEJO-MARÍN, M.; WINN, A. A. Plant mating system in a changing world. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 25, n. 1, p. 35-43, 2009.

Feres, J. M.; SEBBENN, A. M.; GUIDUGLI, M. C.; MESTRINER, M. A.; MORAES, M. L. T.; ALZATE-MARIN, A. L. Mating system parameters at hierarchical levels of fruits, individuals and populations in the Brazilian insect-pollinated tropical tree, *Tabebuia roseo-alba* (Bignoniaceae). **Conservation Genetics**, Arlington, v. 13, n. 2, p. 393-405, 2012.

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

GAINO, A. P. S. C.; SILVA, A. M.; MORAES, M. A.; ALVES, P. F.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical trees species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetic**, Copenhagen, v. 11, n. 5, p. 1631-1643, 2010.

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

- HELLER, J. **Physic Nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the Conservation and use of Underutilized and Neglected Crops.** Rome: IPRI, 1996. 66 p.
- HUFFORD, K. M.; HAMRICK, J. L. Variability selection at three early life stages of the tropical tree *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). **Evolution**, Lancaster, v. 57, n. 3, p. 518-526, 2003.
- LACERDA, A. B.; KANASHIRO, M.; SEBBENN, A. M. Long-pollen movement and deviation of random mating in a low-density continuous population of *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, Lawrence, v. 40, n. 4, p. 462-470, 2008.
- LIENGSIRI, C.; BOYLE, T. J. B.; YEH, F. C. Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. **Journal of Heredity**, London, v. 89, n. 3, p. 216-221, 1999.
- LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 255-273, 2005.
- MANOEL, R. O.; ALVES, P. F.; DOURADO, C.; 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**, Copenhagen, v. 13, n. 3, p. 613-623, 2012.
- MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 74, p. 75-86, jun. 2007.
- MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Pollen dispersal between isolated trees in the Brazilian savannah: a case study of the neotropical tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Lawrence, v. 43, n. 2, p. 192-199, 2011.
- MORI, E. S.; SEBBENN, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; GURIES, R. P. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 99, p. 307-317, set. 2013.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, London, v. 67, p. 167-174, 1991.
- PURCINO, A. A. C.; DRUMMOND, O. A. **Pinhão manso.** Belo Horizonte: EPAMIG, 1986. 7 p.
- QUESADA, M.; FUCHS, E.; LOBO, J. Pollen load size, reproductive success and progeny kinship of natural pollinated flowers of the tropical dry forest tree, *Pachira quinta*. **American Journal Botany**, Columbus, v. 88, p. 2113-2118, 2001.
- RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 3, p. 418-424, 2004.
- RITLAND K. Correlated matings in the partial selfer, *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989.
- RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using independent loci. **Heredity**, London, v. 88, n. 4, p. 221-228, 2002.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequency using independent loci. **Heredity**, London, v. 47, n. 1, p. 35-52, 1981.
- SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-mansó (*J. curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.
- 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, n. 2, p. 147-162, 2002.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; ZANATTO, A. C. E. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: Implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 25-40, 2000.
- SOBIERAJSKI, G. R.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em nove populações de *Mimosa scabrella* Benth (Leguminosaceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 71, p. 37-49, 2006.
- SUN, Q.; LI, L.; WU, G.; GE, X. SSR and AFLP markers reveal low genetic diversity in the biofuel plant *Jatropha curcas* in China. **Crop Science**, Madison, v. 48, n. 5, p. 1865-1871, 2008.

Recebido em 07/05/2014
Aceito para publicação em 11/02/2015