

Sistema de cruzamento em populações de
Handroanthus heptaphyllus (Vell.) Mattos e suas implicações para a
coleta de sementes para fins de conservação e melhoramento genético

Mating system in *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.)
Mattos populations and its implications for seed
collection to genetic conservation and breeding

Neide Tomita Mori¹, Edson Seizo Mori², Evandro Vagner Tambarussi³,
Mario Luiz Teixeira de Moraes⁴ e Alexandre Magno Sebbenn⁵

Resumo

Handroanthus heptaphyllus é uma árvore tropical longeva, polinizada por insetos, comum na vegetação secundária e que possui utilidades econômicas, na arborização e restauração florestal. Para a coleta de sementes e reflorestamento é fundamental conhecer o sistema de reprodução das populações, visto que este determina o tamanho efetivo da amostra. O objetivo deste trabalho foi estudar o sistema de reprodução de duas populações de *H. heptaphyllus*, utilizando marcadores microssatélites, para calcular o número de árvores matrizes para a coleta de sementes. Para isso, sementes de polinização aberta foram coletadas em 30 árvores, sendo 15 árvores na população Lageado e 15 na Veu da Noiva. A taxa de cruzamento multilocus populacional (t_m) foi igual nas duas populações ($t_m = 1,0$), embora com variação individual na taxa de cruzamento entre as árvores matrizes (0,68 a 0,99). A taxa de cruzamento entre parentes ($t_m - t_z$, mínimo de 0,21) e a correlação multilocus de paternidade (r_p , mínimo de 0,11) foram substanciais nas populações, sendo que 97% das árvores cruzaram com parentes, o que sugere estrutura genética espacial nas procedências de coleta de sementes. Devido aos cruzamentos correlacionados, a coancestria dentro de progênie foi maior (Θ mínimo de 0,139) e o tamanho efetivo menor (Θ máximo de 3,07) do que o esperado em progênie de meios-irmãos ($\Theta = 0,125$; $N_e = 4$). Conseqüentemente, para obterem-se amostras de sementes com N_e de 150, o número de árvores matrizes para a coleta de sementes para fins de melhoramento genético, conservação e recuperação ambiental deve ser de, no mínimo, 49 árvores matrizes.

Palavras-chave: marcadores moleculares, microssatélites, progênie, sistema reprodutivo.

Abstract

Handroanthus heptaphyllus is a long-lived tropical tree, insect-pollinated, common in secondary vegetation, and is economical useful for urban and forest restoration purposes. However, when considering seed harvest for reforestation, it is fundamental to know the mating system of populations, since that determines the effective size of the sample. Therefore, the objective of this work was to study the mating system of two *H. heptaphyllus* populations, using microsatellite markers, to estimate the number of seed trees for seed collection procedures. To do that, open pollinated seeds were collected from 15 seed trees in a Lageado population and from 15 at Veu da Noiva. Population multilocus outcrossing rate (t_m) was equal for the two provenances ($t_m = 1.0$), however we observed individual variation for outcrossing rate among trees (0.68 to 0.99). The rate of mating among relatives ($t_m - t_z$, minimum of 0.21) and multilocus paternity correlation (r_p , minimum of 0.11) were substantial in both populations, where 97% of the trees crossed with relatives. This suggests a spatial genetic structure in the populations from where seeds were harvested. Due to correlated mating, the co-ancestry within progenies was higher (Θ minimum of 0.139) and effective size was smaller (Θ maximum of 3.07) than the expected in half-sibs ($\Theta = 0.125$, $N_e = 4$). Consequently, the number of seed trees for seed harvest for breeding, conservation, and reforestation programs must be at least 49.

Keywords: microsatellite molecular markers, progenies, mating systems, genetic diversity.

¹Doutor em Ciência Florestal. UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Rua José Barbosa de Barros, 1780 – Fazenda Experimental Lageado - 18610-307 - Botucatu, SP. E-mail: nkimie@hotmail.com.

²Professor Titular. UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Rua José Barbosa de Barros, 1780 – Fazenda Experimental Lageado - 18610-307 - Botucatu, SP. E-mail: esmori@fca.unesp.br.

³Professor Adjunto. UFSCar - Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Biologia, Rod. João Leme dos Santos, Km 110, Sorocaba, SP, 18052-780. E-mail: tambarussi@gmail.com.

⁴Professor Titular. UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. FEIS - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Ilha Solteira, SP. E-mail: teixeira@agr.feis.unesp.br.

⁵Pesquisador Científico. Instituto Florestal de São Paulo, Estação Experimental de Tupi. Rodovia Luiz de Queiroz, Km 149,5 - Tupi - 13400-970 - Piracicaba, SP - Brasil - Caixa-postal: 339. E-mail: alexandresebbenn@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

Handroanthus heptaphyllus (Velloso) Mattos é uma espécie arbórea tropical longeva e comum na vegetação secundária (capoeiras e capoeirões). A espécie é caducifólia e apresenta na idade adulta, geralmente, de 8 a 20 m de altura e 30 a 60 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), podendo atingir 35 m de altura e 150 cm de DAP (CARVALHO, 1994). Seu tronco é ereto e cilíndrico, de casca espessa e escura, de coloração pardo-cinza e fissurada longitudinalmente. As folhas têm coloração verde-escura, são opostas e compostas de 5 a 7 folíolos obovados, serrados, glabros, de 3 a 10 cm de comprimento por 2 a 6 cm de largura. Sua distribuição natural é ampla e ocorre entre as latitudes de 13° S (estado da Bahia) a 30° S (estado do Rio Grande do Sul) (CARVALHO, 1994).

A espécie possui diversas utilidades, tais como a casca é utilizada para a confecção de xaropes e sua madeira é muito valorizada. Além disso, a espécie tem sido utilizada em programas de recuperação de áreas degradadas e de restauração e é usada, também, como planta ornamental em praças públicas e na recomposição de matas ciliares, pois se desenvolve bem em solos às margens de rios e córregos (MOREIRA; SOUZA, 1987).

Contudo, a espécie é explorada de forma predatória em populações naturais e faltam estudos quanto a silvicultura da espécie, diversidade genética (MORI et al., 2012), sistema de reprodução, dispersão de pólen e sementes para darem suporte a programas de melhoramento genético. É fundamental a implantação de pomares de sementes com a espécie para fins de recuperação de áreas degradadas, reflorestamentos ambientais e comerciais. Contudo, não existem programas de melhoramento genético com oferecimento de sementes melhoradas para essas finalidades. Em programas de melhoramento genético, conservação e reflorestamentos, é de suma importância conhecer o sistema de reprodução das espécies utilizadas para determinar o número necessário de árvores matrizes para a coleta de sementes. Espécies arbóreas apresentam vários tipos de sistemas de reprodução, podendo se reproduzir por cruzamentos, autofecundações e sistema misto de reprodução, combinado cruzamentos com autofecundações. Estes diferentes sistemas têm implicações no parentesco dentro de progênies de polinização aberta e, conseqüentemente, no tamanho efetivo (SEBBENN, 2006). Autofecundações e cru-

zamentos entre parentes geram progênies com endogamia, o que pode resultar em depressão por endogamia, como por exemplo, aumentar a mortalidade nos plantios. Ainda, autofecundações e cruzamentos correlacionados aumentam o parentesco dentro das progênies e reduzem o tamanho efetivo, logo, sementes devem ser coletadas de um número maior de árvores.

O sistema de reprodução tem uma importante influência na diversidade genética de populações naturais (LOVELESS; HAMRICK, 1984) e muitos fatores podem afetá-lo como o tamanho da população, densidade das árvores, síndrome de polinização, disponibilidade de polinizadores e seu comportamento na polinização, sincronia de florescimento, auto-incompatibilidade, fragmentação e corte seletivo de árvores, dentre outros (SEBBENN, 2006). Ressalta-se que estudos têm demonstrado que a fragmentação florestal cria gargalos genéticos, o que reduz a vizinhança reprodutiva, bem como isolando árvores na paisagem, o que por sua vez, pode levar ao aumento na autofecundação e cruzamentos correlacionados (MURAWSKI; HAMRICK, 1991; DICK et al., 2003; LOEW et al., 2005; BREED et al., 2012).

O sistema de reprodução pode ser estudado eficientemente utilizando-se marcadores genéticos como os microssatélites, que em combinações como modelos de reprodução, como o modelo misto (RITLAND; JAIN, 1981) e o modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989) permitem uma caracterização detalhada do processo de reprodução sexual (SEBBENN, 2006).

O objetivo do trabalho foi estudar o sistema de reprodução de duas populações de *H. heptaphyllus*, por meio de marcadores microssatélites. As estimativas de parâmetros do sistema de reprodução foram então utilizadas para determinar o número mínimo de árvores matrizes para a coleta de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de estudo

Foram utilizadas 192 progênies de polinização aberta, coletadas de 30 árvores matrizes de *Handroanthus heptaphyllus* de duas populações (Lageado e Vêu da Noiva) ambas localizadas no município de Botucatu, Estado de São Paulo. As árvores encontram-se em fragmentos florestais naturais da área. Devido a baixa produção de sementes e germinação foram utilizadas para o estudo de quatro a oito sementes por árvore matriz.

Extração de DNA e amplificação dos microssatélites

Para a extração de DNA foram coletados de um a três folíolos das plântulas e armazenados a temperatura ambiente e em local seco. foram utilizadas de 100 a 150 mg do material vegetal por amostra e procedeu-se e extração utilizando o protocolo proposto por Ferreira e Grattapaglia (1998). Para a quantificação de DNA, utilizou-se o aparelho GeneQuant, baseado em espectrofotometria. Para as reações de PCR, por meio de marcadores microssatélites, o DNA foi diluído a 4 ng/ μ L em solução tampão TE (10 mM Tris-Cl- PH 8.0 + 1 mM EDTA-PH 8.0) e com adição de tartrazina. Os *primers* utilizados estão descritos em Braga et al. (2007).

O coquetel (8,58 μ L) para as reações de PCR foi composto por 2 μ L de DNA (4 ng/ μ L); 4,5 μ L de água destilada; 0,96 μ L de tampão (10 mM tris HCL e 50 mM EDTA, pH 7,5); 0,72 μ L de $MgCl_2$; 2,6 μ L de dNTPs (2,5 mM de cada – dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 0,4 μ L de Taq DNA polimerase e 2 μ L de *primer* (1 mM). Para evitar a evaporação do material nos ciclos de amplificação, foi colocada uma gota de óleo mineral, em cada poço da placa. As reações foram realizadas em um aparelho termociclador MJ Research PTC-100, utilizando o seguinte perfil térmico: 92 °C/2 minutos; 94 °C/1 minuto; temperatura de anelamento (Tabela 2)/1 minuto; 72 °C/1 minuto; 30 repetições do ciclo (passos de 2 a 4); 72 °C/5 minutos e mantido a 4 °C até a retirada da placa do equipamento.

Para a visualização do processo de amplificação foram preparados géis de acrilamida/bis na concentração de 6%, utilizando-se 90 mL de acrilamida, 90 μ L de temed e 900 μ L de APS 10% (Persulfato de Amônio), sendo que as amostras foram aplicadas no gel e colocadas para correr por 12 horas, em uma voltagem de 150 V, 50 mA e 3 W. O tampão de carregamento das amostras no gel, para permitir a visualização e o acompanhamento da corrida, foi composto por ficoll 400, 0,25 g de Xylene cyanol, 0,25 g de azul de bromofenol e água suficiente para 100 mL.

A separação dos fragmentos de DNA, por eletroforese foi realizada em solução tampão de tris-borato TBE 0,5X (pH 8,0), a mesma utilizada no preparo dos géis. O gel foi revelado com nitrato de prata, numa solução contendo: etanol (50 mL), ácido acético glacial (8,3 mL) e água destilada (441 mL). Os géis foram mergulhados na solução por 10 minutos, sob agitação suave para a fixação das bandas no gel. Depois, deixados du-

rante 15 minutos na solução de 0,8 g de nitrato de prata em 500 mL de água. Por fim, descartou-se a solução, lavou-se o gel com água destilada por várias vezes, e aplicou-se a solução de hidróxido de sódio (16,7 g), formaldeído 37% (1,7 mL) e água destilada (500 mL). Os géis foram mergulhados na solução sob leve agitação, por 10 minutos. Posteriormente foram lavados, fotografados e os genótipos foram fenotipados.

Análise do sistema de reprodução

O sistema de reprodução foi analisado com base nos modelos de cruzamento misto e cruzamentos correlacionados, a partir do programa MLTR (RITLAND, 2002). Os genótipos maternos foram inferidos da estimativa do genótipo materno mais provável, com base no método de Brown e Allard (1970), alterado por Ritland (2002). Os parâmetros estimados foram: taxa de cruzamento multiloco (t_m), taxa de cruzamento uniloco (t_z), taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_z$) e correlação multiloco de paternidade (r_p). O erro padrão da média dos parâmetros foi estimado a partir de 500 reamostragens *bootstrap*. O número efetivo de árvores polinizadoras foi estimado por, $N_{ep} = 1/r_p$ (Ritland, 1989). O coeficiente de co-ancestria dentro de progênes foi estimado pela correlação de parentesco entre plantas dentro de progênes (r), com base em Ritland (1989): $r = 0,25(1 + F_m)[4s + (t^2 + tsr_z)(1 + r_p)]$, em que, s é a taxa de autofecundação ($s = 1 - t_m$). Os outros parâmetros foram previamente definidos, com exceção de r_z que corresponde à correlação de autofecundação e F_m que é o coeficiente de endogamia das árvores matrizes, assumidos como sendo zero, devido a pequena amostragem de plantas dentro de progênes. Como em espécies diplóides, $r = 2\Theta$ (Lynch; Walsh, 1998), tem-se que, $\Theta = r/2$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estimativa da taxa de cruzamento multiloco (t_m) foi alta e não significativamente diferente da unidade para as duas populações (Tabela 1). Contudo, foi observada variação individual na taxa de cruzamento (Tabela 2). Na população Lageado a taxa de cruzamento variou entre árvores matrizes de 0,68 a 0,99 e na população Veu da Noiva, variou de 0,82 a 0,99. Esta variação individual na taxa de cruzamento pode estar associada ao isolamento espacial de algumas árvores, visto que as populações amostradas eram

pequenas e as árvores em muitos casos estavam distantes de outros coespecíficos. O isolamento espacial pode levar ao isolamento reprodutivo, fazendo com que os polinizadores visitem mais flores de uma mesma árvore, gerando autofecundações. Maior taxa de autofecundação em árvores isoladas do que ocorrentes em grupos ou populações tem sido observada em muitos estudos do sistema de reprodução de árvores (DICK et al., 2003; MANOEL et al., 2012; TARA-ZI et al., 2013). Alternativamente, a variação na taxa de cruzamento entre árvores matrizes pode estar associada à ocorrência de depressão por endogamia. Por exemplo, algumas árvores podem conter maior carga genética do que outras, de forma que autofecundações não gerem descendentes, devido ao aborto do embrião. Hufford e Hamrick (2003) observaram em *Platipodium elegans* que a depressão por endogamia alterava a taxa de cruzamento entre a fertilização e o estágio de plântula, momento em que se acessa os genes das plântulas por análise molecular. Estas explicações são corroboradas pelo fato de que outros estudos do sistema de reprodução realizados com espécies do gênero *Handroanthus* (ex *Tabebuia*) observaram taxas de cruzamento altas, mas menores do que a unidade, indicando a ocorrência de certos níveis de autofecundação (SEBBENN et al., 2000; BRAGA; COLLEVATTI, 2011; FERES et al., 2012). Por exemplo, Sebbenn et al. (2000) detectaram em *Tabebuia cassinoides* taxa de cruzamento de 0,89 em uma população natural e 0,78 em uma submetida ao corte seletivo de árvores, indicando que o sistema de reprodução envolve algumas autofecundações e que alterações antrópicas, como o manejo florestal afetam o sistema de reprodução da espécie. Braga e Collevatti (2011) estudaram dois eventos reprodutivos de uma população de *Tabebuia aurea* e encontraram taxa de cruzamento de 0,57 no evento de 2004 e 0,80 no de 2005, mostrando que o sistema de reprodução varia

entre diferentes eventos reprodutivos. Feres et al. (2012) detectaram em *Tabebuia roseo-alba* taxa de cruzamento de 0,84 em um plantio urbano e 0,96 em uma população natural.

A taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_z$) foi substancial e significativamente diferente de zero em ambas as populações (mínimo de 0,21, Tabela 1). Praticamente todas as árvores cruzaram com parentes, com exceção da árvore matriz 30 da população Véu da Noiva (Tabela 2). O cruzamento entre parentes ocorre devido a existência de estrutura genética espacial, causada principalmente pela dispersão de sementes próximas as árvores mães, de forma que indivíduos parentes crescem agrupados. Associado a isso, o comportamento dos polinizadores pode favorecer a ocorrência de cruzamentos entre árvores próximas, especialmente se a densidade populacional de indivíduos reprodutivos for baixa devido ao pequeno tamanho das populações ou variações individuais no florescimento. Cruzamentos entre parentes em espécies do gênero em questão foram também descritos por Sebbenn et al. (2000) e Feres et al. (2012) e em muitos outros estudos com espécies arbóreas tropicais (SEBBENN, 2006).

A correlação multiloco de paternidade (r_p) foi significativamente maior do que zero, mas não significativamente diferente entre a população Lageado (0,14) e Véu da Noiva (0,11). Em nível de progênies a correção de paternidade variou de 0,03 a 0,23 na população Lageado e de 0,048 a 0,258 na Véu da Noiva. Cruzamentos correlacionados podem ser gerados pelo comportamento dos polinizadores, fecundando mesmas flores com pólen de mesma árvore de origem e/ou devido ao pequeno tamanho das populações. Os cruzamentos correlacionados, juntamente com as estimativas da taxa de autofecundação, demonstram que as progênies de polinização aberta de praticamente todas as árvores matrizes são compostas por diferentes tipos de parentescos,

Tabela 1. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em duas populações de *Handroanthus heptaphyllus*.
Table 1. Estimative of mating system parameters in two *Handroanthus heptaphyllus* populations.

Parâmetros	Lageado Média (IC a 95%)	Véu da Noiva Média (IC a 95%)
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,99 (0,97-1,00)	1,00 (0,98-1,00)
Taxa de cruzamento uniloco: t_z	0,77 (0,73-0,83)	0,79 (0,72-0,88)
Taxa de cruzamento entre parentes: $t_m - t_z$	0,23 (0,16-0,23)	0,21 (0,12-0,25)
Correlação multiloco de paternidade: r_p	0,14 (0,06-0,16)	0,11 (0,10-0,19)
Nº médio de árvores doadoras de pólen: N_{sp}	7,1 (6,3-17,2)	8,9 (5,4-8,9)
Coancestria dentro de progênies: Θ	0,144 (0,132-0,152)	0,139 (0,139-0,153)
Tamanho efetivo de variância: N_e	2,98 (2,86-3,19)	3,07 (2,84-3,07)
Número de árvores matrizes para a coleta de sementes: m	50 (47-52)	49 (49-53)

podendo conter meios-irmãos, irmãos completos, irmãos de autofecundação e irmãos de cruzamento e autofecundações. As correlações de paternidade aqui observadas são similares as detectadas por Feres et al. (2012) em duas populações de *Tabebuia róseo-alba* (máximo de 0,12), o que reforça o fato de que progênies de polinização aberta de árvores de *Tabebuia* serem compostas por diferentes graus de parentescos.

Devido aos cruzamentos correlacionados (Tabela 1), a coancestria dentro de progênies foi maior (Θ mínimo de 0,139) e o tamanho efetivo de variância foi menor (N_e máximo de 3,07) do que o esperado em progênies de meios-irmãos ($\Theta = 0,125$; $N_e = 4$). Entre progênies a coancestria variou de 0,131 a 0,233 e o tamanho efetivo variou de 2,15 a 3,81 (Tabela 2). Consequentemente o número de árvores matrizes para a coleta de sementes, objetivando reter o tamanho efetivo de 150 no conjunto de progênies, para fins de melhoramento genético, conservação e

recuperação ambiental deve ser de no mínimo 49 árvores matrizes. Entretanto, é fundamental ressaltar que as árvores matrizes para a coleta de sementes não podem ser parentes entre si, caso contrário, seus filhos serão parentes, o que reduz o tamanho efetivo. Para evitar coletar sementes de árvores matrizes parentes, deve-se evitar a coleta de sementes de árvores localizadas espacialmente próximas, como árvores vizinhas. Outros dois pontos importantes é que o ideal é que estas árvores matrizes não tenham se cruzado entre si e tenham recebido um conjunto de pólen não sobreposto, caso contrário, também vai ocorrer parentesco entre as sementes destas árvores. Para atingir estas três estratégias de coleta, o ideal é coletar sementes de árvores localizadas a grandes distâncias. Estudos têm mostrado que espécies de árvores polinizadas por abelhas podem receber pólen de longas distâncias (>1.000 m), como por exemplo o relatado por Gaino et al. (2010) para *Miracrodruon urundeuwa* (890

Tabela 2. Sistema de reprodução em nível de plantas individuais de *Handroanthus heptaphyllus*.

Table 2. Mating system at individual plants level of *Handroanthus heptaphyllus*.

Progênie	t_m Media (IC a 95%)	$t_m - t_z$ Media (IC a 95%)	r_P Media (IC a 95%)	N_{sp}	Θ	N_e
Lageado						
1	0,988 (0,000)	0,198 (0,026)	0,226 (0,128)	4,4	0,156	3,21
2	0,988 (0,000)	0,103 (0,033)	0,197 (0,121)	5,1	0,152	3,29
3	0,988 (0,000)	0,104 (0,028)	0,225 (0,123)	4,4	0,155	3,22
4	0,988 (0,000)	0,084 (0,029)	0,099 (0,069)	10,1	0,140	3,57
5	0,988 (0,000)	0,197 (0,033)	0,048 (0,031)	20,8	0,134	3,73
6	0,988 (0,000)	0,177 (0,022)	0,027 (0,014)	37,0	0,131	3,81
7	0,988 (0,000)	0,189 (0,043)	0,176 (0,128)	5,7	0,149	3,34
8	0,988 (0,000)	0,149 (0,044)	0,104 (0,082)	9,6	0,141	3,55
9	0,984 (0,000)	0,107 (0,016)	0,161 (0,141)	6,2	0,149	3,37
10	0,676 (0,148)	0,110 (0,000)	0,243 (0,119)	4,1	0,233	2,15
11	0,984 (0,000)	0,113 (0,038)	0,034 (0,019)	29,4	0,133	3,76
12	0,988 (0,000)	0,117 (0,035)	0,103 (0,072)	9,7	0,141	3,56
13	0,988 (0,000)	0,077 (0,019)	0,078 (0,072)	12,8	0,138	3,64
14	0,988 (0,000)	0,113 (0,036)	0,100 (0,115)	10,0	0,140	3,57
15	0,973 (0,000)	0,084 (0,028)	0,063 (0,030)	15,9	0,139	3,59
Véu da Noiva						
16	0,988 (0,000)	0,164 (0,041)	0,092 (0,096)	10,9	0,139	3,59
17	0,973 (0,000)	0,112 (0,029)	0,062 (0,009)	16,1	0,139	3,59
18	0,973 (0,000)	0,069 (0,017)	0,095 (0,063)	10,5	0,143	3,49
19	0,973 (0,000)	0,095 (0,023)	0,048 (0,004)	20,8	0,138	3,64
20	0,973 (0,000)	0,089 (0,032)	0,055 (0,010)	18,2	0,138	3,61
21	0,973 (0,000)	0,161 (0,031)	0,138 (0,077)	7,2	0,148	3,37
22	0,973 (0,000)	0,117 (0,038)	0,258 (0,118)	3,9	0,162	3,08
23	0,973 (0,000)	0,104 (0,023)	0,057 (0,019)	17,5	0,139	3,61
24	0,973 (0,000)	0,119 (0,025)	0,053 (0,005)	18,9	0,138	3,62
25	0,973 (0,000)	0,105 (0,043)	0,090 (0,054)	11,1	0,142	3,51
26	0,973 (0,000)	0,159 (0,024)	0,111 (0,077)	9,0	0,145	3,45
27	0,973 (0,000)	0,063 (0,011)	0,055 (0,014)	18,2	0,138	3,61
28	0,973 (0,000)	0,201 (0,028)	0,093 (0,041)	10,8	0,143	3,50
29	0,973 (0,000)	0,148 (0,044)	0,060 (0,010)	16,7	0,139	3,60
30	0,820 (0,141)	0,003 (0,137)	0,101 (0,020)	9,9	0,183	2,74

m), Braga e Collevatti (2011) para *Tabebuia aurea* (2.608 m), Manoel et al. (2012) para *Copaifera langsdorffii* (1.420 m), entre outros, embora existe um forte efeito de isolamento por distância, ou seja, quanto maior a distância entre as árvores, menor é a frequência de cruzamentos entre estas. Assim, como não existe estudo específico para a *H. heptaphyllus* nos dois ambientes estudados, uma estratégia poderia ser a coleta de sementes de árvores localizadas a distância de no mínimo 1.000 m.

CONCLUSÕES

1. A reprodução nas duas populações de *Handroanthus heptaphyllus* ocorre por cruzamentos;
2. O sistema de reprodução em termos de taxa de cruzamento e taxa de cruzamentos correlacionados é igual entre as duas populações;
3. Progênes de polinização aberta da espécie apresentam diferentes misturas de parentescos, como meios-irmãos, irmãos completos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e cruzamentos. Consequentemente a coancestria média dentro de progênes e o tamanho efetivo de variância é diferente do esperado em populações panmíticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, A. C.; COLLEVATTI, R. G. Temporal variation in pollen dispersal and breeding structure in a bee-pollinated Neotropical tree. *Heredity*, Edinburg, v. 106, n. 6, p. 911-919, 2011.

BRAGA A. C., REIS A. M. M., LEOI T. L., PEREIRA R. W., COLLEVATTI R. G. Development and characterization of microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae). *Molecular Ecology Notes*, v. 7, n. 1, p. 53-56, 2007.

BREED, M. E.; MARKLUND, M. H. K.; OTTEWELL, K. M.; GARDNER, M. G.; HARRIS J. B. C.; LOWE, A. J. Pollen diversity matters: revealing the neglected effect of pollen diversity on fitness in fragmented landscapes. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 21, p. 5955-68, 2012.

BROWN, A. D. H.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphism. *Genetics*, Pittsburgh, v. 66, n. 1, p. 113-145, 1970.

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

DICK, C. W.; ETCHELECU, G.; ASTERLITZ, F. Pollen dispersal of Neotropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and Africa honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 12, p. 753-764, 2003.

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.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**, 3.ed. Brasília: EMBRAPA CENARGEN, 1998. 220 p.

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

HUFFORD, K. M.; HAMRICK, J. L. Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). *Evolution*, Lancaster, n. 57, n. 3, p. 518-526, 2003.

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

LOWE, A. J.; BOSHIER, D. H.; 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*, Edinburg, v. 95, n. 4, p. 255-273, 2005.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 980 p.

- MANOEL, R. O.; ALVES, P.; 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**, Arlington, v. 13, n. 3, p. 613-623, 2012.
- MOREIRA, T.; SOUZA, E. D. Mata ciliar: vamos abrir os olhos? **Revista Globo Rural**, São Paulo, v. 2, p. 96-102, 1987.
- MORI, N. T.; MORAES, M. L. T.; MORITA, C. M.; MORI, E. S. Genetic diversity between and within populations of *Handroanthus heptaphyllus* Vell. Mattos using microsatellite markers. **Cerne**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 9-15, 2012.
- MURAWSKI, D. A., HAMRICK, J. L. The effect of density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Edinburg, v. 67, n. 2, p. 167-174, 1991.
- 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 n independent loci. **Heredity**, Edinburg, v. 88, n. 4, p.221-228, 2002.
- RITLAND, K.; JAIN, S. K. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity**, Edinburg, v. 47, n. 1, p. 35-52, 1981.
- SEBBENN, A. M. Sistemas de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamento ambientais. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPPEF, 2006. p. 93-138.
- SEBBENN, A. M.; SEONE, C. E.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*) no vale do Ribeira, S.P. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 127-143, 2000.
- TARAZI, R.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Edge effects enhance selfing and seed harvesting efforts in the insect-pollinated Neotropical tree *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). **Heredity**, Edinburg, v. 110, n. 6, p. 578-585, 2013.

Recebido em 06/06/2014

Aceito para publicação em 08/04/2015

