TRABALHOS DE PESQUISA
RESEARCH PAPERS

SCIENTIA FORESTALIS
n. 63, p. 13-22, jun. 2003

Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L.

In situ genetic conservation and number of tree for seed collect in Genipa americana L. population

Alexandre Magno Sebbenn
Paulo Yoshio Kageyama
Roland Vencovsky

RESUMO: A partir da análise de eletroforese de isoenzimas, foram estimados a diversidade genética e o tamanho efetivo de uma população natural de *Genipa americana* L., situada em mata ciliar do Rio Mogi Guaçu, SP, em área do Instituto Florestal do Estado de São Paulo, com o objetivo da conservação *in situ* e uso para a coleta de sementes. A análise de isoenzimas detectou 13 alelos distribuídos em oito locos, sendo quatro monomórficos e quatro polimórficos. Foram observados baixo número de alelos por loco ($\hat{A}$ =1,63) e média porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}$ =50%), tanto em árvores adultas quanto em progênies. A heterozigosidade média esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\hat{H}_e$) foi alta nos adultos e nas progênies (0,182 e 0,149, respectivamente), revelando uma população potencial para a conservação *in situ*. O índice de fixação estimado foi negativo nos adultos ($\hat{f}$ =-0,071) e positivo nas progênies ($\hat{f}$ =0,302), indicando desvios do Equilíbrio de Hardy-Weinberg e seleção a favor de heterozigotos entre a fase juvenil e adulta. O tamanho efetivo ($\hat{N}_e$) estimado nas árvores adultas (50) foi superior ao número de indivíduos amostrados na população (42), revelando um quadro altamente favorável à conservação genética. A partir da estimativa do tamanho efetivo nas progênies determinou-se que, para reter o tamanho efetivo de 50, em amostras de sementes, é necessária a coleta em pelo menos 20 árvores matrizes na população. Com base na densidade de indivíduos por hectare e na relação entre o tamanho efetivo e o número senso ($\hat{N}_e/n$) determinou-se que a área mínima viável para a conservação *in situ* da população seria de 50 hectares.

PALAVRAS-CHAVE: *Genipa americana*, Área mínima viável para a conservação, Tamanho efetivo, Conservação genética *in situ*, Coleta de sementes

ABSTRACT: The genetic diversity indexes and the effective size of a natural population of the tropical forest tree *Genipa americana* L. was studied using isoenzymes electrophorethic technics. The study site was located at a Mogi Guaçu river riparian forest, São Paulo State, Brazil, owned by the São Paulo Forest Institute. The objectives of the research were suggest possible strategies for *in situ* genetic conservation and for using the population as a seed provider for degraded land recuperation projects. Thirteen alleles distributed in eight locus were obtained on the research. Four of these locus were monomorphic and four were polymorphic. The average allele number per locus was 1.63 and the polymorphic locus percentage was 50% (99% probability) for both adults and progenies. The average estimated

expected heterozigosity ($\hat{H}_e$) was high for adults (0.182) and for families (0.149). The fixation index ($\hat{f}$) was negative for adults (-0.071) and positive for the families (0.320), suggesting deviation from Hardy-Weinberg expectation and selection favoring the heterozygotes between the plantule and adult phase. The effective populations size ($\hat{N}_e$) estimate for adults (50) was larger then the number of individual sampled (42), showing a picture very favorable to *in situ* conservation. The effective size estimate for families indicated to retain the effective size of 50, in seed collect practice, is necessary to sample about 20 tree in population. With base on individuals density per hectare and relation of effective populations size and number sense ($\hat{N}_e/n$) was estimate that minimum viable area to conservation this populations should be 50 hectares.

KEYWORDS: *Genipa americana*, Minimum viable area for conservation, Effective population size, *In situ* genetic conservation, Seed collection

INTRODUÇÃO

As matas ciliares constituem um importante ecossistema, cuja principal função é preservar as margens dos rios, evitando a erosão e o conseqüente assoreamento, bem como fornecer alimentação para a fauna aquática. Tais matas têm um papel estratégico para conservação da biodiversidade, preservação da qualidade da água e formação de corredores genéticos entre as poucas florestas primárias existentes nas margens dos rios.

O ambiente ciliar, condicionando fatores meso e microclimáticos, possibilita a instalação de espécies de sub-bosques e de diversas formações florestais que se comportam como acessórias ou acompanhantes, funcionando como corredores de dispersão e mantenedores do fluxo gênico entre populações. No entanto, embora sob proteção do Código Florestal Brasileiro, essas matas vêm sendo alvo de desmatamentos freqüentes, especialmente em decorrência da exploração agrícola e extração de madeira, resultando em longas faixas marginais desmatadas. De acordo com Kageyama e Dias (1982), tal prática leva ao desaparecimento de diversas espécies florestais em várias regiões, com sério comprometimento do potencial genético.

Essa situação mostra a necessidade imediata de estudos genéticos populacionais das espécies que compõem tais ecossistemas para fins de conservação genética *in situ* ou utilização como "áreas para coleta de sementes" objetivando a recuperação de áreas degradadas. Entretanto, dada a impossibilidade prática e econômica do estudo de todas as espécies que compõem os ecossistemas florestais, deve-se procurar amostrar espécies que os representem. Entre as espécies arbóreas tropicais adaptadas às matas ciliares, destaca-se a *Genipa americana*, cuja estrutura genética é adequada para representar espécies de dispersão hidrocórica, dióicas e de polinização entomofílica.

Devido às características adaptativas ao ambiente ciliar, combinadas com o rápido crescimento e abundante produção de sementes, *G. americana* tem sido muito recomendada e utilizada na recuperação de áreas degradadas (Durigan e Nogueira, 1990; Almeida et al., 1994; Rodrigues et al., 1994; Zelazowiski e Lopes, 1994). Para estas atividades é fundamental que as sementes sejam colhidas de um número de árvores matrizes que mantenham níveis razoáveis de variabilidade genética e mínimo de endogamia. Tendo em vista que a variabilidade e a endogamia estão diretamente relacionadas ao tamanho efetivo da população ($\hat{N}_e$), conhecê-lo torna-se importante nas áreas que se pretende utilizar para coleta de sementes. Este parâmetro também é de grande importância para delimitar a área mínima viável para conservação *in situ* de populações de uma espécie.

Tendo em vista o exposto, avaliou-se por eletroforese de isoenzimas a diversidade genética e o tamanho efetivo de uma população natural de *G. americana*, visando determinar o número de árvores matrizes para a coleta de sementes e a área mínima viável para a sua conservação *in situ*. Assim, os objetivos do presente estudo foram: (i) quantificar a variabilidade genética na população; (ii) estimar o tamanho efetivo da população; (iii) determinar o número adequado de árvores para a coleta de sementes e (iv) estimar a área mínima viável para a conservação *in situ* da população.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

O trabalho foi realizado em floresta mesófila semidecídua de planalto, em população natural de *G. americana*, localizada na mata ciliar do Rio Mogi Guaçu, pertencente à Estação Ecológica de Mogi Guaçu, Fazenda "Campininha", da Estação Experimental de Mogi Guaçu, do Instituto Florestal de São Paulo. A mata situa-se nas coordenadas 22°16' S. e 47°11' W., em altitude média de 600 m. A floresta ocupa cerca de 7,2 ha, sendo mata ciliar remanescente da Bacia Hidrográfica Mogiana, na qual o rio de mesmo nome percorre aproximadamente 660 metros. Os solos estão classificados nos tipos LVa e LE (Crestana, 1993). Esses solos de planície de inundações (hidromórficos) estão sujeitos a alagamentos periódicos nas épocas de cheias do rio (Mantovani et al., 1989). O clima é do tipo Cwa, caracterizado como úmido e mesotérmico, com variação na temperatura média mensal de 14,30°C a 24,65°C, segundo classificação de Köppen (1948). A estação seca prolonga-se de maio a agosto, com 86,18% da precipitação (1.314mm anuais) concentrada nos meses chuvosos (setembro a abril) (Crestana, 1993).

Amostragem

A população estudada de *G. americana* é composta por 125 indivíduos adultos reprodutivos (Crestana, 1993). Destes, foram amostrados tecidos foliares em 15 árvores masculinas e 27 femininas, totalizando 42 árvores adultas na população. Também foram coletadas sementes de polinização aberta de 15 matrizes, sendo que, de cada matriz, foram avaliadas 20 plântulas por isoenzimas.

A eletroforese de isoenzimas foi realizada no Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas (LARGEA), do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP, segundo a metodologia proposta por Alfenas (1998). A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%. A extração das enzimas empregou 20 mg de tecido de limbo foliar, macerado com adição de 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polyvinyl Pirrolidone (PVP 40), 7 mg de Polyvinyl Pirrolidone (PVP-360) e 200 microlitros de solução de extração número 1 de Alfenas (1998), modificada pela ausência de 2-Mercaptoetanol. O tampão de cuba e gel foi o Tris-Citrato pH 7.5 (Alfenas, 1998). Os protocolos de revelação das isoenzimas são descritos em Alfenas (1998). Os cinco sistemas enzimáticos usados foram: Fosfoglucomutase (PGM - E.C. 5.4.2.2.), 6-Fosfogluconato desidrogenase (6PGDH - E.C. 1.1.1.44), Fosfogluco isomerase (PGI - E.C. 5.3.1.9), Malato desidrogenase (MDH - E.C. 1.1.1.37) e Peroxidase (PO - E.C. 1.11.1.7).

Análise estatística

A partir dos genótipos isoenzimáticos das árvores adultas e das progênies foram estimados os índices de diversidade genética intrapopulacional, o tamanho efetivo e a área mínima viável para a conservação *in situ* da população. A diversidade genética dentro da

população foi avaliada pela porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}$), número médio de alelos por loco ($\hat{A}$), heterozigosidade observada ($\hat{H}_o$), heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\hat{H}_e$) e índices de fixação ($\hat{f}$), estimativas obtidas a partir do programa BIOSYS-1 (Swofford e Selander, 1989). As freqüências alélicas foram estimadas por: $\hat{p}_i = n_i / n$., em que $\hat{p}_i$ = freqüência do alelo *i* na população; n_i= número de ocorrência do alelo $_i$ na população; n.= número total de alelos amostrados na população. O valor $\hat{P}$ foi calculado pela média aritmética do número de locos polimórficos, dividido pelo número total de locos, sendo que um loco foi considerado polimórfico quando a freqüência do alelo mais comum não ultrapassava 99%. O valor $\hat{A}$ foi obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos. O índice $\hat{H}_o$ para cada loco foi obtido por $\hat{H}_o = 1 - \sum \hat{P}_{ii}$, em que: $\hat{P}_{ii}$= freqüência do homozigoto *ii* e, $\hat{H}_e$ por $\hat{H}_e = 1 - \sum \hat{p}_{ij}^2$, em que: $\hat{p}_{ij}$ = freqüência alélica estimada do *i*-ésimo alelo no *j*-ésimo loco. A estimativa média sobre os locos de $\hat{H}_o$ e $\hat{H}_e$ foi obtida pela média aritmética entre todos os locos analisados (monomórficos mais polimórficos). O índice $\hat{f}$ foi estimado para a média dos locos por $\hat{f} = 1 - (\hat{H}_o / \hat{H}_e)$. A significância de $\hat{f}$ foi calculada a partir de 10.000 reamostragens *boodstrap* sobre locos, obtida com auxílio programa GDA de Lewis e Zaykin (1999).

O tamanho efetivo populacional para plantas adultas foi estimado pelas expressões apresentadas abaixo, adaptadas de Crow e Kimura (1970). A adaptação foi necessária, pois o número de plantas masculinas e femininas amostradas era desigual. Para esta estimativa, pressupôs-se que não existiam diferenças nas freqüências alélicas entre sexos.

Variância média total populacional para plantas femininas ($\hat{\bar{s}}^2_F$):

$$\hat{\bar{s}}^2_F = \frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{2\hat{N}_{eF}} = \frac{\hat{s}^2_I}{N_f} + \frac{\hat{s}^2_G}{2N_f}$$

Variância média total populacional para plantas masculinas ($\hat{\bar{s}}^2_M$):

$$\hat{\bar{s}}^2_M = \frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{2\hat{N}_{eM}} = \frac{\hat{s}^2_I}{N_m} + \frac{\hat{s}^2_G}{2N_m}$$

assim: $\hat{\bar{s}}^2_{FM} = W_F^2 \hat{\bar{s}}^2_F + W_M^2 \hat{\bar{s}}^2_M = \dfrac{\bar{p}(1-\bar{p})}{2\hat{N}_e}$

sendo: $W_F = \dfrac{N_f}{N_f + N_m}$; $W_M = \dfrac{N_m}{N_f + N_m}$

em que: $\bar{p}$ (1- $\bar{p}$)= $\hat{\bar{s}}^2_T$; $\bar{p}$ = freqüência alélica média; $\hat{\bar{s}}^2_T$ = variância genética média total; N_f = número de plantas femininas; N_m = número de plantas masculinas.

Para as progênies, $\hat{N}_e$ foi estimado pela expressão apresentada por Vencovsky (1992) para plantas monóicas (flores díclinas e hermafroditas), visto que não é possível separar os sexos das plântulas:

$$\hat{\bar{s}}^2_T = \frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{2\hat{N}_e} = \frac{\hat{s}^2_F}{m} + \frac{\hat{s}^2_{I(F)}}{nm} + \frac{\hat{s}^2_{G(I)}}{2nm}$$

em que: *n* = número de plantas por progênie; *m* = número de progênies; $\hat{s}^2_F$ = variância genética entre progênies; $\hat{s}^2_{I(F)}$ = variância genética entre indivíduos dentro de progênies; $\hat{s}^2_{G(I)}$ = variância genética entre genes dentro de indivíduos.

A área mínima viável (*AMV*) para a conservação genética in situ foi calculada em função do tamanho efetivo de referência ($N_{e(ref.)}$ =1.000), proposto por Lynch (1996), da relação entre o tamanho efetivo e o tamanho amostral ($\hat{N}_e$/*n*) e da densidade de indivíduos por hectare (d) na população alvo da conservação:

$$AMV = \frac{nN_{e(ref.)}}{d\hat{N}_e}$$

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Diversidade genética

Os níveis de diversidade genética detectados na população de *G. americana* são suficientes para a sua conservação *in situ*. A porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}$) foi de 50% tanto para os adultos como para as progênies. Comparando a magnitude desse índice com aqueles encontrados para espécies vegetais, 36,8% por Hamrick et al. (1979) e 50% por Hamrick e Godt (1990), pode-se considerar que a população de *G. americana* apresenta um polimorfismo alto. Entretanto, comparando-se o índice $\hat{P}$ encontrado em *G. americana* com os encontrados para duas espécies arbóreas tropicais comuns, também da família Rubiaceae, *Alseis blackiana* (89,3%) e *Psychotria horizontalis* (49,5%) estudadas por Hamrick e Loveless (1986), observam-se valores inferiores à primeira espécie, mas muito próximos à segunda. Contudo, segundo Nei (1987), esta estatística é muito influenciada pelo tamanho da amostragem genética (número de locos), por isso não é uma boa medida de variabilidade genética para comparação entre amostras de tamanhos diferentes.

A estimativa do número médio de alelos por locos ($\hat{A}$) foi baixa e não variou entre adultos e progênies (1,63 $\pm$ 0,26) (Tabela 1). Para a estimativa de $\hat{A}$ consideraram-se todos os locos, monomórficos e polimórficos e como 50% dos locos eram monomórficos, o valor estimado apresentou-se baixo. Considerando apenas os locos polimórficos, o valor de $\hat{A}$ sobe para 2,25 (0,25), o que já pode ser considerado um número relativamente alto de alelos por locos.

A heterozigosidade observada ($\hat{H}_o$) foi alta para os adultos (0,195) e relativamente baixa para as progênies (0,105). Já a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\hat{H}_e$) foi alta para ambos os adultos e progênies (0,182 e 0,149, respectivamente). A estimativa de $\hat{H}_o$ foi superior a $\hat{H}_e$ nos adultos, e inferior nas progênies, revelando excesso de heterozigotos nos adultos e de homozigotos nas progênies ou, em outras palavras, a heterozigosidade observada nos adultos foi maior do que a esperada se a população estivesse em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), contrariamente ao que ocorreu com as progênies. Em concordância, nos adultos, o índice de fixação ($\hat{f}$) foi negativo, baixo e não diferente de zero e, nas progênies, o valor de $\hat{f}$ foi alto, positivo e estatisticamente diferente de zero, mostrando excesso de homozigotos e que as freqüências gênicas observadas se desviam das freqüências esperadas, segundo os pressupostos de EHW. Desvios do EHW, em locos supostamente neutros como isoenzimas, implicam que a população está subdividida reprodutivamente em grupos com certo grau de parentesco, cruzamentos não aleatórios (autofecundações e cruzamentos biparentais) ou deriva genética. Possivelmente a subdivisão esteja associada à existência de estruturas de

Tabela 1
Estimativa média do número de alelos por locos ($\hat{A}$), porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}_{99\%}$), heterozigosidade observada ($\hat{H}_o$), heterozigosidade esperada ($\hat{H}_e$), índices de fixação ($\hat{f}$) e tamanho amostral (*n*) em adultos e progênies de *G. americana*.
(Estimation of average of number of alleles per locus ($\hat{A}$), percent polymorphic loci ($\hat{P}_{99\%}$), observed heterozigosity ($\hat{H}_o$), expected heterozigosity ($\hat{H}_e$), fixation index ($\hat{f}$) and sample size (*n*), in adults and progenies of *G. americana* population).

	Adultos	Progênies
n	42	300
$\hat{A}$	1,63 (0,26)	1,63 (0,26)
$\hat{P}_{(99\%)}$	50,0%	50,0%
$\hat{H}_o$	0,195 (0,068)	0,105(0,055)
$\hat{H}_e$	0,182 (0,054)	0,149 (0,083)
$\hat{f}$	-0,071 (0,077)	0,302 (0,092)

(): Erro padrão da média.

famílias dentro da população. Os cruzamentos biparentais e a deriva genética podem ser decorrentes do assincronismo na antese das flores masculinas e femininas, poliandria (depósito de múltiplos grãos de pólen de mesma planta polinizadora) ou do comportamento dos polinizadores, visitando sistematicamente as mesmas plantas. Sebbenn et al. (1998), estudando a distribuição espacial dos genótipos e o sistema de reprodução dessa população, observaram fraca estruturação, mas desvios de cruzamentos aleatórios. Foram detectadas diferenças genéticas significativas entre as freqüências gênicas dos óvulos e do pólen e que aproximadamente 56,7% das progênies foram geradas por cruzamentos biparentais. Portanto, parte dos desvios do EHW podem ser atribuídos ao sistema de reprodução.

Ainda, a endogamia acentuada nas progênies e o pequeno excesso de heterozigotos nos adultos, apontam para a hipótese de seleção a favor de heterozigotos entre a fase de progênies e a adulta. A seleção dá a entender que os cruzamentos na população geram uma grande quantidade de sementes endogâmicas a cada ciclo reprodutivo, mesmo considerando que as plantas adultas contêm alta heterozigosidade e estão nas proporções de EHW. Estes resultados sugerem que a seleção natural eliminaria, preferencialmente, as sementes endogâmicas, permitindo que somente sementes heterozigóticas atinjam a fase adulta. Isto pode ser uma estratégia adaptativa da espécie, liberando uma grande quantidade de sementes endogâmicas à disposição da seleção natural, porém, permitindo apenas que descendentes heterozigóticos se estabeleçam e venham a se reproduzir, garantindo a manutenção dos níveis de heterozigosidade da população. Murawski (1995) comparou o índice $\hat{f}$ entre adultos e progênies em várias espécies arbóreas tropicais, observando, igualmente como aqui, que as árvores adultas apresentavam valores quase sempre negativos, enquanto que nas progênies os valores eram quase sempre positivos, ou mesmo quando ambos os adultos e progênies apresentavam valores positivos ou negativos, os níveis de fixação alélica eram sempre maiores nas progênies e menores nos adultos. Indícios de seleção a favor de heterozigotos também foram observados por Mitton e Grant (1980), Strauss (1987) e Sebbenn et al. (2000; 2001).

Comparando-se o valor de $\hat{H}_e$, obtido para adultos e progênies de *G. americana*, com os estimados em espécies vegetais, 0,141 (Hamrick et al., 1979), ao nível de populações de espécies arbóreas, 0,149 e de espécies arbóreas tropicais, 0,109 (Hamrick e Godt, 1990), observa-se grande superioridade nos valores aqui encontrados. Todavia, quando se compara $\hat{H}_e$, com espécies arbóreas tropicais de alta densidade, da família Rubiaceae, 0,374 (*Alseis blachiana*) e 0,152 (*Psychotria horizontalis*) e na média de 16 espécies arbóreas tropicais comuns, 0,211 (Hamrick e Lovelless, 1989), observa-se que a heterozigosidade de *G. americana* foi inferior à encontrada para a primeira espécie, superior à segunda e próxima à terceira. Tais resultados mostram que os níveis de heterozigosidade observados em *G. americana* estão de acordo com os padrões observados em outras espécies arbóreas tropicais. Os altos valores de $\hat{H}_e$, a aderência das freqüências genotípicas nos adultos ao EHW e as evidências de seleção em favor de heterozigotos mostraram a população de *G. americana* com potencial para a conservação *in situ*.

Tamanho efetivo

O tamanho efetivo estimado ($\hat{N}_e$) nas árvores adultas foi utilizado para inferir a conservação genética *in situ* e o tamanho efetivo estimado nas progênies para inferir o número adequadas de árvores para a coleta de sementes (Tabela 2). A estimativa de $\hat{N}_e$ nas árvores adultas (49,1) foi semelhante à estimada nas progênies

Tabela 2
Estimativa de componentes de variâncias, tamanho efetivo da amostra ($\hat{N}_{e(amost)}$), tamanho efetivo da população ($\hat{N}_{e(pop)}$), tamanho efetivo por árvore matriz ($\hat{N}_e$ */matriz*.) e relação entre o tamanho efetivo e o tamanho amostral ($\hat{N}_{e(amost)}$ */n*) para adultos e progênies de *G. americana*.
(Estimation of variance components, effective sample size ($\hat{N}_{e(amost)}$), effective population size ($\hat{N}_{e(pop)}$), effective size per tree mother ($\hat{N}_e$ */matriz*.) and relation between effective size and sample size ($\hat{N}_{e(amost)}$ */n*) for adults and progenies of *G. americana*).

Adultos				Progênies			
	A	B	C		A	B	C
$\hat{s}^2_I$	-0,0106	$n = 42$	-0,0009	$\hat{s}^2_F$	0,0199	$m = 15$	0,0013
$\hat{s}^2_{G(I)}$	0,1733	$2n = 84$	0,0045	$\hat{s}^2_{I(F)}$	0,0189	$mn = 296$	0,0001
$\hat{s}^2_T$	0,1628	-----	-----	$\hat{s}^2_{G(I/F)}$	0,0944	$2mn = 592$	0,0002
	-----	-----	-----	$\hat{s}^2_T$	0,1333	-----	0,0016
$\hat{N}_{e(amost)}$			49,1[1]	$\hat{N}_e$		42,9	
$\hat{N}_{e(amost)}$ /n			1,2	$\hat{N}_e$ /matriz		2,9	
$\hat{N}_{e(pop.)}$			145,9				

A: Estimativa de componentes de variância; B: n = número de indivíduos; m = número de progênies; C = A/B = variância média de cada componente; 1: Média ponderada entre sexos
$\hat{s}^2_I$ =variância genética entre indivíduos; $\hat{s}^2_{G(I)}$ =variância genética entre genes dentro de indivíduos; $\hat{s}^2_F$ =variância genética total; $\hat{s}^2_T$ =variância genética entre progênies; $\hat{s}^2_{I(F)}$ =variância genética entre indivíduos dentro de progênies; $\hat{s}^2_{G(I/F)}$ =variância genética entre genes dentro de indivíduos dentro de progênies.

(42,9) (Tabela 2). A partir da estimativa de $\hat{N}_e$, nas plantas adultas, pode-se afirmar que os 42 indivíduos (*n*) amostrados representam 50 indivíduos de uma população panmítica ideal (população de tamanho infinito, com cruzamentos aleatórios e sem endogamia e parentesco intrapopulacional). Da mesma forma, a estimativa do $\hat{N}_e$ na população adulta ($\hat{N}_{e\,(pop.)}$ =146) indica que os 125 exemplares que compõe a população representam 146 indivíduos de uma população ideal. A superioridade na estimativa de $\hat{N}_e$ sobre *n* é coerente com os índices de fixação negativos detectados, ou seja, não há endogamia nas árvores adultas. Esta superioridade decorreu da alta heterozigosidade detectada nessa geração. O valor estimado para $\hat{N}_{e\,(pop.)}$ (146), também é superior a 50, valor sugerido por Frankel e Soulé (1981) para reter, no curto prazo (10 gerações), a variabilidade genética em locos com dois alelos, em uma população sem sobreposição de gerações. Isto demonstra que a população tem alto potencial genético para a conservação e para a coleta de sementes.

A estimação do tamanho efetivo nas progênies mostrou que as 300 plântulas amostradas correspondem a 43 indivíduos de uma população panmítica ideal. Para essa estimação não foi possível separar os sexos das plântulas sendo seu cálculo realizado através da metodologia proposta por Vencovsky (1992), para plantas monóicas. Esta não é a forma ideal de estimar $\hat{N}_e$, mas serve como uma aproximação deste parâmetro. Em simulação, da estimativa de $\hat{N}_e$, para os adultos de *G. americana*, a partir da metodologia desenvolvida para espécies monóicas, obteve-se um valor subestimado. Assim, supõe-se que o valor calculado de $\hat{N}_e$, para as progênies, sofra o mesmo efeito, subestimando o valor real. A estimação do

$\hat{N}_e$ nas progênies permite delinear estratégias para a coleta de sementes e para a conservação genética *ex situ*. Para esta atividade deve-se procurar otimizar a estimativa de $\hat{N}_e$, ou seja, obter a melhor representatividade genética possível da população de interesse. Logo, é necessário que se minimizem os componentes médios da variância, que por sua vez, reduzirão a variância média total ($\hat{s}_T^2$) e maximizarão a estimativa de $\hat{N}_e$, visto que, $\hat{N}_e = [\,\overline{p}\,(1-\overline{p}\,)]/\hat{s}_T^2$, sendo $\overline{p}$ a freqüência alélica média na população. Como os componentes da variância são estimativas de parâmetros populacionais, portanto variam dentro de uma faixa de erro em função do tamanho amostral, a forma de reduzir suas contribuições na variância média total é manipulando a intensidade amostral nos diversos níveis hierárquicos (indivíduos e progênies). Desta forma, aumentando-se a intensidade amostral dos componentes que mais contribuíram para a variância total, reduzir-se-ão suas contribuições ao componente médio, maximizando a estimativa de $\hat{N}_e$. Nas progênies, a variância que mais contribuiu para a variância total foi a variância genética entre progênies ($\hat{s}_F^2$), definindo que a melhor estratégia para amostragem é através da coleta de sementes no maior número de matrizes dentro da população. O número de árvores matrizes (*m*) para a coleta de sementes pode ser determinado a partir de um tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e\,(ref)}$) e do tamanho efetivo médio de cada matriz ($\hat{N}_e$*/matriz*= $\hat{N}_{e\,(pop)}$/*m*). Dividindo o valor de $\hat{N}_{e\,(ref)}$ pela estimativa de $\hat{N}_e$/matriz obtém-se uma estimativa aproximada do número de árvores para a coleta de sementes. Usando como referencial o tamanho efetivo 50 (Frankel e Soulé, 1981) e sendo a estimativa $\hat{N}_e$/matriz = 2,9 (42,9/15), supõem-se que a coleta de sementes em 18 árvores ($\hat{m} = \hat{N}_e / \hat{N}_e$/matriz) seja suficiente. Contudo, como provavelmente a estimativa de $\hat{N}_e$ nas progênies encontra-se superestimada, sugere-se o número de 20 matrizes, para ter-se maior segurança na retenção do tamanho efetivo de 50.

O valor estimado para $\hat{N}_e$/matriz é menor do que o esperado (4) em uma população ideal (população de tamanho infinito, de cruzamentos aleatórios e sem endogamia e parentesco na geração parental). A existência de endogamia nas progênies ($\hat{f}$ =0,302) e o tamanho finito de cada progênie (20 plântulas) são as causas. O valor máximo assumido por $\hat{N}_e$/matriz em amostras infinitas de sementes, tomadas de populações de cruzamentos aleatórios, sem endogamia e parentesco, é 4. Assim, $\hat{N}_e$ poderia atingir o valor máximo de 60 (4x15), e o valor estimado (49,1) corresponde a 81,8% do máximo, assumindo em uma população ideal, portanto, a endogamia e o tamanho amostral finito reduziram o tamanho efetivo em 18,2%. Vencovsky (1987) sugere, maximizar o $\hat{N}_e$, tanto para a coleta de sementes como para a conservação de germoplasmas, que se processe o controle gamético feminino pela coleta de um número igual de sementes de cada planta. Esta prática aumenta o tamanho efetivo, uma vez que todas as árvores maternas contribuirão com igual número de gametas femininos, reduzindo o efeito da deriva genética ou, em termos estatísticos, reduzindo a variância do número de gametas fornecidos pelas plantas genitoras, maximizando o $\hat{N}_e$.

Área mínima viável para a conservação

A análise da diversidade genética e a estimativa do tamanho efetivo nos adultos revelaram a população como potencial para a conservação *in situ*. A conservação genética *in situ* visa preservar populações ou espécies em seu habitat natural para utilização atual ou futura. No caso da *G. americana*, a conservação da população em estudo, está sendo advogada sem prévia definição de quando essa será realmente utilizada. Por isso, o tamanho efetivo de 1.000, proposto por Lynch (1996) para a con-

servação do potencial adaptativo de caracteres quantitativos em uma simples população, foi utilizado como referencial. Com base neste valor, na relação $\hat{N}_e$/n estimada para a população adulta (1,2) e na densidade de plantas por hectare (17,3), supõe-se que esta poderá ser conservada dentro de uma área de aproximadamente 50 ha [1.000/(17,3x1,2)], sem que ocorra o perigo da perda de variabilidade genética e potencial adaptativo em caracteres quantitativos. Como a área ocupada pela mata em questão é de apenas 7,2 ha e, portanto existe um *déficit* de 42,8 ha, há necessidade da conservação de outras populações próximas, preferencialmente interligadas por fluxo gênico ou da ampliação da população.

CONCLUSÕES

Os níveis de diversidade genética medidos pelos índices de diversidade número médio de alelos por loco (A), porcentagem de locos polimórficos (P) e heterozigosidade esperada (H_e) foram altos, evidenciando a população como potencial para a conservação *in situ* e a coleta de sementes para a recuperação de áreas degradadas e alteradas.

A estimativa do tamanho efetivo nas progênies foi inferior ao esperado em populações de cruzamentos aleatórios, apontando que, para a coleta de sementes na população estudada, são necessárias aproximadamente 20 árvores matrizes.

Com base no tamanho efetivo e na densidade de indivíduos por hectare, estima-se que a área mínima viável para conservação *in situ* da população de *G. americana* é de 50 hectares.

AUTORES

ALEXANDRE MAGNO SEBBENN é Pesquisador do Instituto Florestal do Estado de São Paulo - Caixa Postal 1322 - São Paulo, SP - 01059-970 - E-mail: amsebbenn@bol.com.br

PAULO YOSHIO KAGEYAMA é Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP - Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba, SP - 13400-970 - E-mail: kageyama@esalq.usp.br

ROLAND VENCOVSKY é Professor Titular do Departamento de Genética da ESALQ/USP - Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba, SP - 13400-970 - E-mail: rvencovs@esalq.usp.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, A.C.; NASSUR, C.A.; FONSECA, S.; PACCAGNELLA, S.G. Aplicação de técnicas alternativas na recuperação de área degradada: estudo de caso na Aracruz Celulose. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 2, Foz do Iguaçu, 1994. **Anais**. Curitiba: FUPEF, 1994. v.1, p.473-486.

CRESTANA, C.S.M. **Biologia reprodutiva de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) na Estação Ecológica de Mogi Guaçu, Estado de São Paulo**. Rio Claro, 1993. 222p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista

CROW, J.F.; KIMURA, M.A. **An introduction to population genetics theory**. New York: Harper & Row, 1970. 591p.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J.C.B. Recomposição de matas ciliares. **IF Série registros**, v.4, p.1-14, 1990.

FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327p.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S., ed. **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1990. p.43-63.

HAMRICK, J.L.; LINHART, Y.B.; MITTON, J.B. Relationships between life history characteristc and eletrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual review of ecology and systematics**, v.10, p.173-200, 1979.

HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. The genetic structure of tropical tree populations: association with reproductive biology. In: BOCK, J.H.; LINHART, Y.B., ed. **The evolutionary ecology of plants**. Boulder: Westview Press, 1989. p,129-146.

HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, v. 8, p.201-207, 1986.

KAGEYAMA, P.Y.; DIAS, I.S. Aplicação da genética em espécies florestais nativas. **Silvicultura em São Paulo**, v.16A, p.782-791, 1982.

KÖPPEN, W. **Climatologia**. México: Editora Fundo de Cultura Econômica, 1948. 207 p.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic date analysis: computer program for the analysis of allelic date - version 1.0 for Windows 3.1**. Albuquerque: University of New Mexico, 1999. http//alleyn.eeb.uconn.edu/gda/

LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE, J.C.; HAMICK, J.L., ed. **Conservation genetics: case studies from nature**. New York: Chapman & Hall, 1996. p.471-501

MANTOVANI, W.; ROSSI, L.; ROMANIUC NETO, S.; ASSAD-LUDEWIGS, I.Y.; WANDERLEY, M.G.L.; MELO, M.M.R.F; TOLEDO, C.B. Estudo fitossociológico de áreas de matas ciliar em Mogi Guaçu, SP, Brasil. In: BARBOSA,L.M. **Simpósio sobre mata ciliar**. Campinas: Fundação Cargill, 1989. p.235-267.

MITTON, J.B.; GRAND, M.C. Observation on the ecology and evolution of quaking aspen, *Populus tremuloides*, in the Colorado Front Range. **American journal of botany**, v.67, p.1040-1045, 1980.

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

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512p.

RODRIGUES, R.R.; GANDOLFI, S.; RIBEIRO, C.A. Revegetação de áreas degradadas da bacia do Ceveiro, Piracicaba, SP. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 2, Foz do Iguaçu, 1994. **Anais**. Curitiba: FUPEF, 1994. v.1, p.178-188

SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. BIOSYS-1: a FORTRAN computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. **Journal of heredity**, v.72, p.282-283, 1989.

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**, v.58, p.25-40, 2000.

SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOSVKY, R. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia forestalis**, v.53, p.15-30, 1998.

SEBBENN, A.M.; SEOANE, C.E.; KAGEYAMA, P.Y.; LACERDA, M.C.B. Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Revista do Instituto Florestal**, v.13, p.99-113, 2001.

STRAUSS, S.H. Heterosis at allozyme loci under inbreeding and crossbreeding in *Pinus attenuata*. **Genetics**, v.113, p.115-134, 1987.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista brasileira de genética**, v.15, supl.1, p.53-60, 1992.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. **IPEF**, n.35, p.79-84, 1987.

ZELAZOWISKI, V.H.; LOPES, G.L. Revegetação em áreas de embate no refúgio biológico de Santa Helena, Itaipu Binacional - margem esquerda. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 2, Foz do Iguaçu, 1994. **Anais**. Curitiba: FUPEF, 1994. v.1, p.417-424.