



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E DOS PADRÕES
DE FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO EM UMA
COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE *Hancornia
speciosa* Gomes (Apocynaceae)**

ANA MARIA OLIVATTI

Orientador:
Profa. Dra. Rosane Garcia Collevatti

Coorientadores:
Prof. Dr. Lázaro José Chaves

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Ana Maria Olivatti

Título do trabalho: AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E DOS PADRÕES DE FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO EM UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE *Hancornia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*).

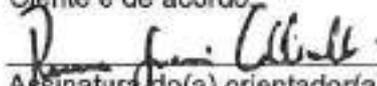
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento **SIM** **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 26 / 11 / 18

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

ANA MARIA OLIVATTI

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E DOS PADRÕES DE FLUXO GÊNICO
CONTEMPORÂNEO EM UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE *Hancornia
speciosa* Gomes (*Apocynaceae*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador:

Prof.^a. Dr.^a. Rosane Garcia Collevatti

Co- Orientador:

Prof. Dr. Lázaro José Chaves

Goiânia, GO – Brasil

2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Olivatti, Ana Maria
AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E DOS PADRÕES DE FLUXO
GÊNICO CONTEMPORÂNEO EM UMA COLEÇÃO DE
GERMOPLASMA DE *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)
[manuscrito] / Ana Maria Olivatti. - 2013.
xc, 90 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Rosane Garcia Collevatti; co-orientador Dr. Lázaro José Chaves.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Genética & Melhoramentos de Plantas, Goiânia, 2013.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. coleção de germoplasma. 2. fluxo gênico contemporâneo. 3. *Hancornia speciosa*. 4. sistema reprodutivo. I. Garcia Collevatti, Rosane, orient. II. Título.

CDU 575

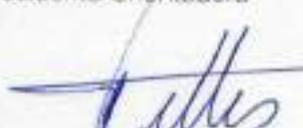


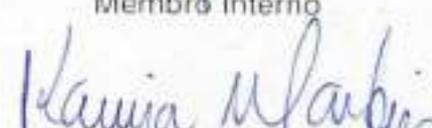
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE ANA MARIA OLIVATTI. Aos vinte e dois dias do mês de Março do ano de dois mil e treze (22.03.2013), às 09h00min, no Auditório PPGA da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora, Prof^ª Dr^ª Rosane Garcia Collevatti – Presidente/Orientadora, Prof. Dr. Lázaro José Chaves, Prof^ª Dr^ª Mariana Pires de Campos Telles e Prof^ª Dr^ª Karina Martins. Sob a presidência da orientadora, e em sessão pública, procedeu-se à avaliação da defesa de Dissertação intitulada: **“AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E DOS PADRÕES DE FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO NA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE *Hancornia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*)”**, de autoria de **Ana Maria Olivatti**, discente do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, no nível de Mestrado, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela presidente da Banca Examinadora, Prof^ª Dr^ª Rosane Garcia Collevatti, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor da Dissertação que, em 40 minutos, apresentou o seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o mestrando, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Ao final, a banca reunida em separado procedeu a avaliação da defesa. O título da dissertação foi alterado para Avaliação da ocorrência e dos padrões de fluxo gênico contemporâneo em uma coleção de Germoplasma de *Hancornia speciosa* Gomes (*Apocynaceae*). De acordo com a Resolução nº 1053/2011, do CEPEC - Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura, que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, e desde que procedidas às correções recomendadas, a Dissertação será considerada Aprovada pela Banca Examinadora, estando integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de MESTRE EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, pela Universidade Federal de Goiás. O mestrando deverá efetuar as modificações eventualmente sugeridas pela Banca Examinadora e encaminhar a versão definitiva da Dissertação à Secretária do PGMP, no prazo máximo de trinta dias após a data da Defesa. A conclusão do Curso e a emissão do Diploma dar-se-ão após o cumprimento do Artigo 52 da Resolução CEPEC nº 1053/2011. A Banca Examinadora recomenda a publicação de artigo(s) científico(s), oriundo(s) dessa Dissertação, em periódicos de circulação nacional e, ou, internacional, depois de procedidas as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades de pauta, às 11 h 40min. A presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Dissertação e, para constar eu, Jéssica Almeida, secretária PGMP, lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, segue assinada pelos membros da Banca Examinadora, em duas vias de igual teor.


Prof^ª Dr^ª Rosane Garcia Collevatti
Presidente/Orientadora


Prof. Dr. Lázaro José Chaves
Membro Interno


Prof^ª Dr^ª Mariana Pires de Campos Telles
Membro Interno


Prof^ª Dr^ª Karina Martins
Membro Externo

Aos meus pais, irmãs e marido por todo o amor, apoio, incentivo e compreensão nos momentos difíceis e pelas alegrias nos bons momentos dessa minha caminhada.

OFERECO

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tem me oferecido e por todas as pessoas maravilhosas que tem colocado em meu caminho.

Ao meu querido marido, Renato, por todo amor, carinho, companheirismo e paciência.

Aos meus amados pais por todo amor e carinho, por todos os ensinamentos durante minha vida, pelo apoio incondicional, e pelo esforço que fizeram para que eu sempre alcançasse meus objetivos.

Às minhas queridas irmãs pelo amor, amizade e companheirismo, fundamentais na minha vida.

À Rosane Garcia Collevatti, minha orientadora, pela atenção, paciência, incentivo, por todos os ensinamentos, pela disponibilidade e pela confiança depositada em mim durante minha formação acadêmica.

Ao meu co-orientador, Lázaro José Chaves, pelo qual tenho grande admiração e respeito, por todos os ensinamentos e pela ajuda com o experimento de campo.

Aos amigos e professores do Laboratório de Genética & Biodiversidade pela amizade, companheirismo, pela ajuda nos experimentos e por todos os bons momentos de descontração. Agradeço em especial à Edilene Silva e a Fernanda Fraga pela ajuda na coleta de dados, à Camila Fernanda pela amizade e ajuda com o desenvolvimento do trabalho e ao Eduardo Borges pelo auxílio na análise de dados.

Às professoras Mariana P.C Telles e Karina Martins por terem aceitado o convite para participarem da Banca Examinadora da dissertação e pelas contribuições.

À CAPES pela concessão da minha bolsa de mestrado, sem a qual seria muito mais difícil a realização desse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Escola de Agronomia da UFG; E a todos os professores que contribuíram com meu crescimento científico e pessoal.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente me ajudaram para que esse trabalho pudesse ser realizado com sucesso.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	<i>Hancornia speciosa</i>	14
3.1.1	Taxonomia e nomenclatura	14
3.1.2	Área de ocorrência	14
3.1.3	Morfologia e fenologia	15
3.1.4	Importância e perspectivas da cultura	18
3.2	SISTEMA DE REPRODUÇÃO EM PLANTAS	19
3.3	DIVERSIDADE GENÉTICA E FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO	23
3.4	RECURSOS GENÉTICOS	26
3.5	MANUTENÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE COLEÇÕES DE GERMOPLASMA	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1	ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM	31
4.2	EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM	34
4.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	36
4.3.1	Caracterização da diversidade genética existente nos indivíduos adultos e nas progênies da coleção de germoplasma de <i>H. speciosa</i>	36
4.3.2	Caracterização da diversidade genética existente nas variedades botânicas presentes na coleção de germoplasma de <i>H. speciosa</i>	37
4.3.3	Análise do sistema reprodutivo	37
4.3.4	Análise de fluxo gênico contemporâneo	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EXISTENTE NOS ADULTOS E NAS PROGÊNIES DA COLEÇÃO DE <i>H. speciosa</i>	43
5.2	CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EXISTENTE NAS VARIEDADES PRESENTES NA COLEÇÃO DE <i>H. speciosa</i>	49
5.3	ANÁLISE DO SISTEMA REPRODUTIVO	53
5.3.1	Frequência alélica no óvulo e no pólen	53
5.3.2	Taxas de cruzamento e parentesco	57
5.4	ANÁLISE DE FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO	61
6	CONCLUSÕES	77
7	REFERÊNCIAS	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Locos microsatélite utilizados no estudo e suas características.	35
Tabela 2	<i>Multiplex</i> formadas para genotipagem em sequenciador dos indivíduos de <i>H. speciosa</i> .	36
Tabela 3	Caracterização da variabilidade genética dos indivíduos adultos da coleção de <i>H. speciosa</i> .	44
Tabela 4	Germinação das sementes por matriz.	44
Tabela 5	Caracterização da variabilidade genética das progênes de <i>H. speciosa</i> .	46
Tabela 6	Comparação entre a variabilidade existente em adultos e progênes.	46
Tabela 7	Caracterização da variabilidade genética de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> .	49
Tabela 8	Caracterização da variabilidade genética de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i>	50
Tabela 9	Caracterização da variabilidade genética de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> .	50
Tabela 10	Caracterização da variabilidade genética de <i>H. speciosa</i> var. <i>speciosa</i> .	50
Tabela 11	Comparação entre a variabilidade das variedades botânicas de <i>H. speciosa</i> .	51
Tabela 12	Frequência alélica no <i>pool</i> de pólen e óvulo, por loco.	54
Tabela 13	Análise do sistema reprodutivo de <i>H. speciosa</i> por matriz.	57
Tabela 14	Parâmetros do sistema reprodutivo de <i>H. speciosa</i> .	59
Tabela 15	Atribuição de paternidade, demonstrando que diferentes variedades contribuíram com a polinização das matrizes.	63
Tabela 16	Resultado do teste de paternidade realizado na progênie de <i>H. speciosa</i> .	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Indivíduos adultos de <i>H. speciosa</i> da coleção de germoplasma da EA, mostrando a deiscência das folhas na época seca.	16
Figura 2	Folhas de <i>H. speciosa</i> , mostrando as diferenças morfológicas entre as variedades.	17
Figura 3	Floração e frutificação de <i>H. speciosa</i> .	17
Figura 4	Detalhes dos frutos imaturos de <i>H. speciosa</i> .	19
Figura 5	Mapa do Brasil com a distribuição das 32 populações onde os indivíduos foram coletados para implantação da coleção de germoplasma.	32
Figura 6	Coleção de frutíferas nativas do Cerrado da EA/UFG, demonstrando a disposição da coleção de <i>H. speciosa</i> e distribuição das plantas por variedade.	33
Figura 7	Preparo das sementes para plantio.	34
Figura 8	Distribuição das frequências alélicas encontradas para os locos microssatélites analisados nos indivíduos adultos e nas progênes de <i>H. speciosa</i> .	48
Figura 9	Distribuição das frequências alélicas encontradas nas variedades botânicas para os locos microssatélites analisados em <i>H. speciosa</i> .	51
Figura 10	Distribuição de frequência das distâncias de dispersão de pólen na coleção de germoplasma de <i>H. speciosa</i> , para todas as atribuições de paternidade	75

RESUMO

OLIVATTI, A. M. **AValiação da ocorrência e dos padrões de fluxo gênico contemporâneo em uma coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

Hancornia speciosa Gomes é uma espécie frutífera que habita diversas regiões do Brasil. É uma espécie de grande importância para a fauna das regiões em que ocorre e possui um elevado potencial econômico. A espécie é dividida em seis variedades botânicas e o que distingue essas variedades são principalmente características morfológicas. Porém, nenhum trabalho mais aprofundado foi feito a fim de identificar diferenças genéticas entre essas variedades. Além disso, pouco se sabe sobre o sistema de cruzamento e os padrões de fluxo de pólen dessa espécie. Nesse sentido, o objetivo geral do estudo foi avaliar o fluxo gênico contemporâneo (via pólen) e o sistema reprodutivo em uma estação reprodutiva na coleção de germoplasma *in vivo* e *ex situ* de *H. speciosa* Gomes, mantida pela Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Foram amostrados todos os 274 indivíduos adultos da coleção, 28 árvores (matrizes) foram selecionadas e de cada uma dessas foram coletados 20 frutos. Uma semente de cada fruto foi plantada em casa de vegetação, totalizando 560 sementes. Houve germinação em 57% das sementes plantadas e dessas foram coletadas folhas para as análises de paternidade. Todos os indivíduos foram genotipados com sete locos microssatélites desenvolvidos para a espécie. Para o conjunto de locos analisados foi possível encontrar uma média de 18,6 alelos por loco nos indivíduos adultos e 15,7 para as progênies. Não houve diferença significativa entre a heterozigosidade esperada e observada nos adultos e nas progênies. Quando foram avaliadas as variedades botânicas separadamente, não foi possível encontrar diferenças significativas entre o número de alelos, e a heterozigosidade esperada e observada, para cada variedade. A bateria de locos utilizada é capaz de discriminar indivíduos e excluir a paternidade de um doador de pólen que não seja o verdadeiro ($IC=3,34 \times 10^{-11}$ e $QC=0,9999$). As taxas de fecundação cruzada multiloco (t_m) e uniloco (t_s) foram altas e iguais a 0,990 e 0,899, respectivamente. A diferença da taxa de cruzamento multiloco e uniloco combinada para todas as famílias analisadas foi significativa, indicando a ocorrência de 9,1% de cruzamento entre indivíduos aparentados. A correlação de autofecundação foi negativa indicando que não houve a ocorrência de formação de sementes oriundas de autofecundação e isso corrobora a hipótese da espécie ser autoincompatível. A correlação de paternidade foi muito baixa, 0,076, e isso significa que apenas 7,6% das sementes de cada matriz são filhas do mesmo doador de pólen, isto é são irmãos germanos. Foi possível determinar a paternidade para 71,56% (229) das sementes analisadas, todas as variedades botânicas de *H. speciosa* contribuíram para os eventos de cruzamento, não havendo assim, restrição ao fluxo gênico entre as variedades. A distância de dispersão de pólen variou de 5 m, entre vizinhos, a 165,6 m, com média de 53 m e 64% dos eventos de polinização ocorreram a distâncias menores que 60 m. A área efetiva média de vizinhança de polinização, considerando todas as atribuições, foi igual a 8.702 m². Dentre os eventos de cruzamento, 29% envolveram doadores de pólen que não estão na coleção, demonstrando que esta havendo contaminação de pólen na coleção de germoplasma.

Palavras-chaves: coleção de germoplasma, fluxo gênico contemporâneo, *Hancornia speciosa*, sistema reprodutivo.

Orientadora: Rosane Garcia Collevatti

Co-orientador: Lázaro José Chaves

ABSTRACT

OLIVATTI, A. M. **EVALUATION OF OCCURRENCE AND STANDARDS OF CONTEMPORARY GENE FLOW IN A GERMPLASM COLLECTION OF *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

Hancornia speciosa Gomes is a fruit species inhabiting different regions of Brazil. It's kind of great importance for the fauna of the regions in which it occurs and has a high economic potential. The species is divided into six botanical varieties and to distinguish these varieties are mainly morphological characteristics. However, no further work was done to identify genetic differences between these varieties. Furthermore, little is known about the mating system and pollen flow patterns of this species. Accordingly, the general objective of the study was to evaluate the contemporary gene flow and the reproductive system in a reproductive station in the germplasm collection *in vivo* and *ex situ* of *H. speciosa*, maintained by the Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. It sampled every 274 adults in the collection, 28 trees (matrices) were selected and each of these 20 fruits was collected. A seed of each fruit was planted in a greenhouse, totaling 560 seeds, 57% of the seeds germinated and these leaves were collected for analyzes of paternity. All subjects were genotyped with seven microsatellite loci developed for the species. For the set of loci analyzed was possible to find an average of 18.6 alleles per locus in adults and 15.7 for the progenies. There was no significant difference between the observed and expected heterozygosity found in adults and progenies. When the botanical varieties were evaluated separately, we could not find significant differences between the number of alleles, and observed and expected heterozygosity for each variety. The battery of loci used is capable to discriminating individuals and exclude the paternity of a false pollen donor (CI = 3.34×10^{-11} and QC = 0.9999). Multilocus outcrossing rates (t_m) and single locus outcrossing (t_s) were high and equal to 0.990 and 0.899, respectively. The difference of multilocus outcrossing rate and single locus outcrossing combined for all families analyzed was significant, indicating the occurrence of 9.1% crossover between related individuals. The correlation of selfing was negative indicating no occurrence of the formation of seeds produced by selfing and this corroborates the hypothesis be self-incompatible species. The paternity correlation was very low, 0.076, and this means that only 7.6% of the seeds of each mother are daughters of the same pollen donor. Paternity was determined for 71.56% (229) of the analyzed seeds, all botanical varieties of *H. speciosa* contributed to the events of crossing, without thereby restricting the gene flow between varieties. The pollen dispersal distance varied from 5 m between neighbors, 165.6 m, averaging 53 m and 64% of pollination events occurred at distances of 60m. The effective neighborhood area of pollination, considering all paternity assignments, was equal to 8702 m². Among the events crossing, 29% involved pollen donors that are not in the collection, showing that there is contamination of pollen in germplasm collection.

Keywords: contemporary gene flow, germplasm collection, *Hancornia speciosa*, reproductive system.

1 INTRODUÇÃO

Hancornia speciosa é uma espécie neotropical, popularmente conhecida como mangabeira, amplamente distribuída pelo Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (Vieira Neto, 1994), que ocorre também em países vizinhos como Paraguai, Bolívia, Peru e Venezuela (Lederman et al., 2000). O gênero a que a mangaba pertence é considerado monotípico e, portanto, sua única espécie é *H. speciosa*, descrita por Monachino (1945) e Manica (2002) que as separaram em seis variedades botânicas. Essas variedades se distinguem por caracteres morfológicos, principalmente pela morfologia de folhas e flores. Coelho & Valva (2001) afirmam que a existência de diferentes variedades sugere uma história evolutiva com restrição ao fluxo gênico por um longo período de tempo. Sem a restrição do fluxo gênico, a diferença entre as variedades pode ser devida a um polimorfismo mendeliano e, portanto, não há razão para se considerar variedades diferentes (Chaves, 2006).

A espécie tem importante papel ecológico por servir de alimento para a fauna (macacos e micos, aves e insetos) das regiões onde ocorre (Pereira et al., 2006). *H. speciosa* tem, também, uma grande potencial econômico, pois a frutífera é fonte de renda para as populações rurais que a utilizam para fabricação de sucos, polpas, doces, compotas, geléias, licores, xaropes, vinhos, vinagres e na medicina popular (Soares et al., 2006). Apesar de sua importância econômica, não há para a espécie plantios ou pomares significativos e quase a totalidade dos frutos comercializados é oriunda de atividades extrativistas nas populações naturais.

Darrault & Schlindwein (2006) em estudo de polinização manual feito com a espécie relataram que *H. speciosa* é uma espécie autoincompatível e, portanto, depende de agentes polinizadores para sua reprodução. No entanto, não há estudos, principalmente genéticos, que tenham avaliado o sistema de cruzamento e os padrões de fluxo gênico da espécie. O sistema e modo de reprodução, em espécies vegetais, têm grande influência na estrutura genética das populações e na organização da mesma no espaço e no tempo, visto que determina como a informação genética é transferida de uma geração para outra (Wright, 1921; Holsinger, 2000; Silvertown, 2008). Esse sistema, juntamente com o comportamento dos agentes polinizadores, afetam diretamente os padrões de fluxo gênico,

devido a movimentação do pólen dentro de uma população ou entre diferentes populações. O fluxo gênico funciona de forma antagonista às forças evolutivas como mutação e seleção, pois enquanto essas forças tendem a diferenciar as populações o fluxo gênico tende a homogeneizá-las (Slatkin, 1985). Em plantas o fluxo gênico ocorre tanto pela dispersão de pólen quanto de semente (Levin & Kerster, 1974). Porém, a dispersão de pólen e semente só acarretará em fluxo gênico efetivo se o grão de pólen migrante resultar no estabelecimento de um embrião ou se as sementes migrantes se estabelecerem na população receptora (Hamrick & Nason, 2000).

Diversos estudos têm sido conduzidos a fim de avaliar a ocorrência e os padrões de fluxo gênico tanto para populações naturais quanto para coleções de germoplasma. Nesse sentido muito esforço tem sido aplicado com o intuito de estimar a taxa de autofecundação (Stoehr & Newton, 2002; Moriguchi et al., 2004), taxa de imigração ou contaminação de coleções de germoplasma por pólen externo (Adams et al., 1997; Buiteveld et al., 2001; Stoehr & Newton, 2002; Burczyk et al., 2004; Moriguchi et al., 2004; Kaya et al., 2006), variação na fertilidade ou contribuição polínica (Plomion et al., 2001; Stoehr & Newton, 2002), distância de fluxo de pólen dentro das coleções (Burczyk et al., 2004), averiguação do número de doadores de pólen (Moriguchi et al., 2004; Slavov et al., 2005) e seleção nas coleções (Grattapaglia et al., 2004; Rodrigues, 2012). Os marcadores moleculares, principalmente os microssatélites, têm auxiliado nesse tipo de estudo, pois com eles é possível obter uma estimativa real (direta) do movimento de genes, tanto via pólen quanto via semente, dentro das coleções.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o fluxo de pólen e o sistema de cruzamento em uma estação reprodutiva da coleção germoplasma *in vivo* e *ex situ* de *Hancornia speciosa* Gomes, mantida pela Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar a diversidade genética conservada na coleção de germoplasma de *H. speciosa* da EA/UFG, por meio de marcadores microssatélites.
2. Comparar a diversidade genética das quatro variedades botânicas de *H. speciosa* presentes na coleção, sendo elas: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *cuyabensis*, *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *pubescens*.
3. Estimar a taxa de fecundação cruzada e verificar a ocorrência de autofecundação.
4. Determinar a área efetiva de polinização e a distância média de fluxo de pólen dentro da coleção.
5. Avaliar se há e em qual taxa ocorre imigração de pólen para a coleção de germoplasma de *H. speciosa*.
6. Determinar se há fluxo gênico entre as variedades botânicas de *H. speciosa* presentes na coleção de germoplasma.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Hancornia speciosa*

3.1.1 Taxonomia e nomenclatura

Hancornia speciosa, popularmente conhecida como mangabeira pertence à divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem *Gentianales*, família *Apocynaceae*, gênero monotípico *Hancornia*, segundo a classificação de Cronquist (1988) citado por Silva Junior & Ledo (2006). Monachino (1945) e Manica (2002) descreveram seis variedades botânicas para a espécie: *Hancornia speciosa* var. *speciosa* (Gomes), *H. speciosa* var. *maximilliani* (A. DC.), *H. speciosa* var. *lundii* A. DC., *H. speciosa* var. *cuyabensis* (Malme), *H. speciosa* var. *gardneri* (A. DC. Muell. Arg.) e a *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees & Martius) Muell. Arg.

As seis variedades se distinguem por caracteres morfológicos, principalmente pela morfologia de folhas e flores (Monachino, 1945), no entanto Silva-Junior & Ledo (2006) sugerem que estudos mais aprofundados devem ser realizados acerca da origem e ocorrência dessas variedades no Brasil. A existência dessas variedades pressupõe adaptações locais e uma história evolutiva com restrição ao fluxo gênico por um longo período de tempo ou a existência de plasticidade fenotípica e pequenas mutações em caracteres controlados por poucos genes. Contudo, algumas variedades descritas são simpátricas, onde é possível observar plantas com características intermediárias (Coelho & Valva, 2001; Chaves, 2006).

3.1.2 Área de ocorrência

Hancornia speciosa é uma espécie neotropical, encontrada vegetando espontaneamente em várias regiões do Brasil, desde tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste, onde é mais abundante, até as áreas sob Cerrado das regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste (Vieira Neto, 1994), ocorrendo também em países vizinhos como Paraguai, Bolívia, Peru e Venezuela (Lederman et al., 2000).

As variedades de *H. speciosa* geralmente ocorrem em áreas distintas, no entanto algumas variedades co-ocorrem em uma mesma região. A variedade típica *speciosa*, predominante no Nordeste do país, ocorre desde o Rio de Janeiro até o Norte (Chaves & Moura, 2003). *Hancornia speciosa* var. *maximiliani* tem ocorrência em Minas Gerais, enquanto *H. speciosa* var. *lundii* é relatada em Minas Gerais, Pernambuco, Bahia, Goiás e também no Espírito Santo. *Hancornia speciosa* var. *cuyabensis* é encontrada no Mato Grosso nas proximidades da Chapada dos Guimarães e *H. speciosa* var. *pubescens* em Goiás, Minas Gerais, nas caatingas da Bahia e de Pernambuco. *Hancornia speciosa* var. *gardneri* tem uma ocorrência ampla, sendo encontrada em todo o Brasil Central (Monachino, 1945).

Hancornia speciosa encontra condições favoráveis de sobrevivência principalmente em áreas de solos marginais para fins agrícolas, acidentados, pedregosos, arenosos ou areno-argilosos, pobres e ácidos, sujeitos a longos períodos de estiagem. No Cerrado, a espécie ocorre principalmente nas encostas pedregosas, em formações abertas, com padrão de distribuição agregado. A planta resiste ao fogo que constitui fator seletivo da vegetação nessas regiões (Almeida et al., 1998). A espécie é tolerante a períodos de déficit hídrico e nas épocas de temperatura mais elevada, apresenta melhor desenvolvimento vegetativo (Andersen & Andersen, 1988; Vieira Neto, 1994). A planta é semi decídua ou decídua, trocando a folhagem durante o período mais seco do ano. No ápice dos ramos das plantas adultas surgem brotações contendo flores e folhas novas, fato que leva a tendência de maior floração e maior produção de frutos em plantas mais ramificadas (Pereira Neto et al., 2006).

3.1.3 Morfologia e fenologia

A mangabeira é uma árvore perene, de porte médio, que mede de 2 m a 10 m de altura podendo chegar raramente até os 15 m (Figura 1). Possui copa ampla, às vezes mais larga que alta com galhos pendentes e de folhagens reduzidas. Seu tronco é geralmente tortuoso com até 30 cm de diâmetro e apresenta córtice levemente suberoso e enrugado (Monachino, 1945; Silva et al., 2001).



Figura 1. Indivíduos adultos de *H. speciosa* da coleção de germoplasma da EA, mostrando a deiscência das folhas na época seca (Fonte: Autora).

As folhas são simples, alternas e opostas, geralmente decíduas, coriáceas, oblongas ou elípticas-lanceoladas medindo de 3,5 cm a 10 cm de comprimento, pilosas ou glabras e possuem pecíolo curto (Figura 2).

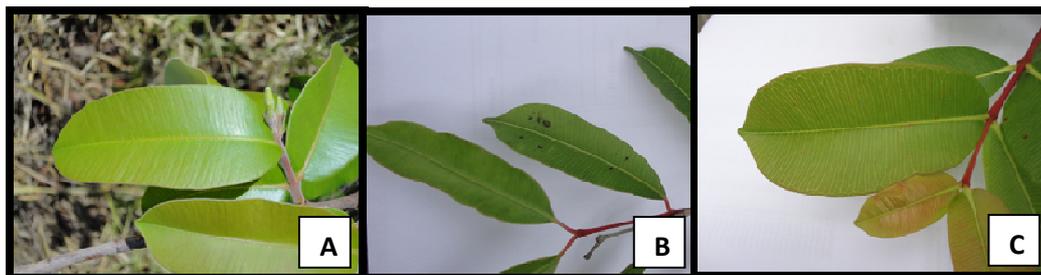


Figura 2. Folhas de *H. speciosa*, mostrando as diferenças morfológicas entre as variedades. A: *Hancornia speciosa* var. *pubescens*, B: *Hancornia speciosa* var. *speciosa* e C: *Hancornia speciosa* var. *gardneri* (Fonte: Autora).

A flor da mangabeira é hermafrodita gêmea ou trigêmea no ápice dos râmulos, branca, campanulada e aromática (Figura 3 a e b). Possui tubo floral longo e estreito de 3 cm a 4,5 cm de comprimento. O androceu é dotado de cinco estames epipétalos, anteras lanceoladas de filetes curtos e deiscência rimosa. O gineceu com ovário pequeno,

unicarpelar, dotado de muitos óvulos, estilete longo com estigma em carretel (Aguiar Filho et al., 1998). A inflorescência é do tipo dicásio ou cimeira terminal com 1 a 7 flores (Almeida et al., 1998), ocorrendo até 10 flores por ápice. A mangabeira normalmente apresenta duas floradas por ano, uma na estação chuvosa e outra no período seco, ainda com os frutos da florada anterior (Figura 3 c) (Aguiar Filho et al., 1998).

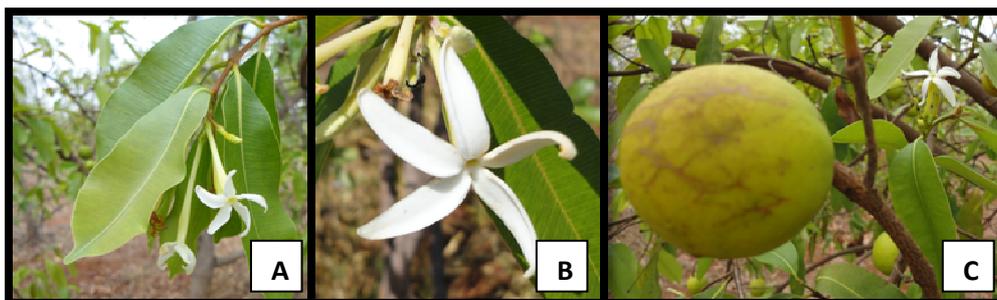


Figura 3. Floração e frutificação de *H. speciosa*, mostrando os detalhes da inflorescência (A), da flor (B) e a presença de frutos da floração anterior junto com flores (C) (Fonte: Autora).

A antese das flores da mangabeira inicia-se entre as 15h e 16h30min e dura até as 10h da manhã do dia seguinte. As flores se abrem e fecham sincronicamente e liberam o odor adocicado durante toda a noite para atrair os agentes polinizadores. Embora as flores sejam hermafroditas elas apresentam uma dicogamia temporal, sendo que as fases femininas (período de receptividade dos estigmas) e masculinas (período de liberação do pólen) ocorrem em momentos nitidamente distintos (Darrault & Schlindwein, 2006; Silva Junior & Ledo, 2006). Darrault & Schlindwein (2006) relataram o desenvolvimento inicial de frutos provenientes de flores autopolinizadas manualmente, o que pode estar relacionado a um mecanismo de autoincompatibilidade tardio. Dessa maneira, os autores sugerem a realização de estudos anatômicos e genéticos para o esclarecimento do tipo de mecanismo de autoincompatibilidade envolvido.

Apesar de algumas vezes ocorrer especialização por parte de alguns visitantes florais, em geral as flores atraem diversos grupos de polinizadores (Janzen 1980; Waser et al., 1996; Fleming et al., 2001). As flores de *H. speciosa* atraem visitantes florais noturnos e diurnos de várias espécies, principalmente Lepidopteras. Darrault & Schlindwein (2005) não detectaram qualquer relação espécie-específica entre a planta e seus visitantes florais. Porém, todos os insetos que contribuem para a polinização de *H. speciosa* possuem língua longa e isso está relacionado com a morfologia da flor. Entre os diferentes grupos

taxonômicos de polinizadores de *H. speciosa*, destacam-se: Sphingidae, abelhas (*Euglossini*), Hesperidae e Nymphalidae (*Heliconius*) (Darrault & Schlindwein, 2006).

Os frutos são arredondados ou piriformes (forma de pêra), com variações no tamanho, de coloração verde quando imaturo, e amarelo com manchas vermelhas quando maduros (Figura 4). Os frutos são aromáticos, delicados e com sabor agradável ao paladar humano. A polpa é branca, fibrosa e recobre as sementes (Lorenzi, 2002). O peso dos frutos varia de 5 a 50 g no Nordeste (Aguiar Filho et al., 1998) e de 30 a 260 g no Cerrado (Silva et al., 2001). As sementes são achatadas e discóides, com 7 mm a 8 mm de diâmetro, cor castanho-clara (Lederman et al., 2000; Silva et al., 2001) e podem ser do tipo poliembriônicas com duas e três plântulas por semente que apresentam desenvolvimento uniforme. A dispersão de *H. speciosa* é do tipo zoocórica em que as sementes são dispersas por animais que se alimentam dos frutos (Salomão & Allem, 2001; Silva-Junior & Ledo, 2006).



Figura 4. Detalhes dos frutos imaturos de *H. speciosa* (Fonte: Autora).

3.1.4 Importância e perspectivas da cultura

A espécie é um importante componente dos ecossistemas onde ocorre principalmente no cerrado e no litoral nordestino, servindo de fonte de alimentação para as populações locais e para a fauna (macacos e micos, aves e insetos) (Pereira Neto et al., 2006). A frutífera é fonte de renda para as populações rurais que a utilizam para fabricação de sucos, polpas, doces, compotas, geléias, licores, xaropes, vinhos e vinagres. Além disso, outras partes da planta são empregadas na medicina popular: a casca, por exemplo, possui propriedades adstringentes; o látex é empregado contra a tuberculose, úlceras, herpes,

dermatoses e verrugas; o chá da folha é usado para cólica menstrual; e o decocto da raiz, para tratar luxações e hipertensão (Soares et al., 2006).

O interesse pela cultura de *H. speciosa* tem crescido muito (Lederman & Bezerra, 2006). Apesar desse crescente interesse, a principal forma de exploração da espécie continua sendo o extrativismo (Vieira Neto, 2001) e áreas em que se pratica o cultivo tecnificado são quase inexistentes, o que constitui uma barreira ao aproveitamento de todas as suas propriedades (Lederman et al., 2000). Não há nenhum levantamento sobre o tamanho da área de ocorrência natural de *H. speciosa*, porém sabe-se que com a expansão agrícola essa área vem diminuindo drasticamente, em níveis muitas vezes preocupantes. Isso ocorre principalmente no Nordeste onde a espécie concorre com a ocupação urbana e com o cultivo de cana-de-açúcar (Lederman & Bezerra, 2006).

Um dos principais fatores que impedem o desenvolvimento de áreas de cultivo de *H. speciosa* é o lento desenvolvimento da planta até atingir a fase reprodutiva (três a cinco anos) e sua sazonalidade, na qual a colheita dos frutos se concentra em quatro meses do ano (Lederman & Bezerra, 2006). Nesse sentido a identificação de materiais genéticos que, além de mais produtivos, apresentem qualidade superior para o aproveitamento industrial e/ou consumo *in natura* é de fundamental importância tanto para a conservação da espécie quanto para a formação de pomares produtivos (Chitarra & Chitarra, 1990).

3.2 SISTEMA REPRODUTIVO

O sistema e modo de reprodução, em espécies vegetais, têm grande influência na estrutura genética das populações e na organização da mesma no espaço e no tempo (Loveless & Hamrick, 1984), visto que determina como a informação genética é transferida de uma geração para outra (Wright, 1921; Holsinger, 2000; Silvertown, 2008). As espécies vegetais podem se reproduzir tanto de forma sexuada, com a troca de gametas, quanto de forma assexuada.

A reprodução assexuada em plantas ocorre de duas formas, por meio da propagação vegetativa e da agamospermia, em ambos os casos há a formação de clones da planta genitora. A propagação vegetativa se dá pela produção de rametes, a partir de estruturas somáticas, que podem tornar-se independentes em qualquer estágio de vida. A

agamospermia é a produção partenogenética de sementes, também chamada de apomixia. As sementes apomíticas dependem de estruturas reprodutivas da planta genitora, assim como as plantas de reprodução sexual, para seu desenvolvimento e dispersão (Holsinger, 2000; Silvertown, 2008).

A reprodução sexuada envolve a ocorrência de meiose e a união de gametas, e é controlada pelo sistema sexual, sistema de reprodução, mecanismos de autoincompatibilidade, padrões de florescimento e síndromes de polinização (Boshier, 2000; Holsinger, 2000). Os três principais sistemas sexuais são a dioicia, a monoicia e o hermafroditismo (Boshier, 2000). A dioicia é quando a planta só produz flores unissexuais, isto é, há plantas com flores femininas e plantas com flores masculinas. A monoicia é quando a planta é hermafrodita, apresentando flores femininas e masculinas no mesmo indivíduo. Já o hermafroditismo é quando a planta apresenta flores bissexuais (feminina e masculina) no mesmo indivíduo (Bawa, 1974; Crawford et al., 2009).

O sistema sexual determina os possíveis eventos reprodutivos que podem ocorrer entre os membros de uma população, afetando o percentual de autofecundação e de fecundação cruzada (Finkeldey, 1998). Por exemplo: espécies dióicas, por terem os sexos masculinos e femininos separados nos indivíduos, só se reproduzem por fecundação cruzada, visto que os gametas masculinos e femininos são produzidos sempre em indivíduos diferentes; em espécies monóicas e hermafroditas, em que os gametas são produzidos no mesmo indivíduo, o sistema sexual aumenta a probabilidade de união de gametas gerados por esse indivíduo (Bawa, 1980; Boshier, 2000).

O sistema reprodutivo de uma espécie pode ser classificado de acordo com a taxa de fecundação cruzada ($t = 1 - s$) em três tipos principais: 1) sistema de cruzamentos ou alogamia ($t > 0,80$); 2) sistema misto de reprodução ($0,20 < t < 0,80$) ou; 3) sistema de autofecundação ou autogamia ($t < 0,20$) (Schemske & Lande, 1985; Goodwillie et al., 2005).

O pólen pode se movimentar de diferentes maneiras em cada espécie de acordo com seu sistema reprodutivo, e esse movimento afeta a taxa de fecundação cruzada. O termo alogamia se refere à polinização entre flores, que pode ser de um mesmo indivíduo ou entre indivíduos diferentes. Xenogamia é o termo utilizado para caracterizar a

transferência de pólen entre flores de indivíduos diferentes, ou seja, refere-se a fecundação cruzada.

Quando se fala em autofecundação, o movimento do pólen pode ocorrer de duas formas: dentro de uma única flor que é autogamia ou entre flores diferentes de um mesmo indivíduo, fenômeno denominado de geitonogamia. Para prevenir a ocorrência de eventos de autofecundação existem barreiras mecânicas, fisiológicas e genéticas, que diferem de uma espécie para outra (Endress, 1994; Barret, 2003). A dicogamia temporal em flores bissexuais pode elevar a taxa de fecundação cruzada, já que há uma separação entre a liberação do pólen e a receptividade do estigma. A dicogamia espacial ou hercogamia, que é a diferença no tamanho, forma e disposição das anteras em relação ao estigma, também favorece a fecundação cruzada.

Muitas espécies vegetais apresentam ainda mecanismos de autoincompatibilidade (Barret, 2003), que podem ser pré ou pós-zigóticos. Os mecanismos pré-zigóticos geralmente incluem a inibição do crescimento do tubo polínico no estigma ou pistilo, e são controlados por um ou vários locos. Os mecanismos pós-zigóticos, usualmente relacionados com o aborto, manifestam-se em qualquer estágio de desenvolvimento do embrião. É importante notar que muitas vezes os mecanismos pós-zigóticos confundem-se com os efeitos gerados pela depressão endogâmica e por isso devem ser estudados com maior cautela (Boshier, 2000; Goodwillie et al., 2005).

Outros mecanismos que alteram a taxa de fecundação cruzada são os padrões de florescimento e conseqüentemente a presença e o comportamento dos agentes polinizadores (Franceschinelli & Bawa, 2000). Diferentes populações de uma mesma espécie podem apresentar assincronismo ou sincronismo no florescimento. Usualmente, o sincronismo tende a ser vantajoso para a competição por serviços dos polinizadores, e permite maior troca de pólen entre indivíduos (Bawa, 1980; Boshier, 2000). Além disso, espécies que apresentam sincronismo e superabundância de flores tendem a uma melhor e maior dispersão de pólen, do que aquelas classificadas como “estáveis”, espécies que produzem poucas flores diariamente durante um longo período (Gentry, 1974; Augspurger, 1983).

A polinização apresenta um importante fator que altera a taxa de fecundação cruzada e influencia diretamente a dispersão de pólen em plantas (Boshier, 2000;

Holsinger, 2000). A evolução e a estabilidade do sistema reprodutivo misto estão relacionadas com a predominância da polinização por animais (Barrett et al., 1996; Vogler & Kaliz, 2001). Isso ocorre porque a autofecundação garante o sucesso reprodutivo quando há poucos polinizadores ou baixa densidade de indivíduos reprodutivos. Além disso, a descontinuidade de pólen gerado por falta de polinizadores faz com que o custo da fecundação cruzada seja maior do que de autofecundação, assim promovendo menores taxas de fecundação cruzada (Goodwillie et al., 2005).

A fim de conhecer o sistema de reprodução de uma espécie vegetal são feitos estudos para estabelecer as taxas de fecundação cruzada, taxas de autofecundação, a proporção dos cruzamentos que ocorrem entre indivíduos aparentados, o número de parentais envolvidos na reprodução de uma planta, o tamanho da área de vizinhança reprodutiva das populações, a divergência no pólen cruzado entre plantas, a distância de dispersão de pólen e a ocorrência de fluxo gênico em uma população. Esses estudos podem ser realizados por meio de observações dos agentes polinizadores ou com a utilização de marcadores genéticos (Paiva et al., 1993; Sebbenn et al., 2000).

Os métodos tradicionais se baseiam na observação do comportamento de agentes polinizadores, no exame da morfologia floral e em resultados de experimentos de polinização controlada (Ellstrand, 1992). As taxas de cruzamento são inferidas pela análise das progênies, mediante marcadores morfológicos conhecidos. Esses métodos são ditos como indiretos e fornecem indicações sobre o sistema reprodutivo de uma espécie, mas não permitem uma medida efetiva do sucesso reprodutivo (Paiva et al., 1993).

O uso de marcadores moleculares para avaliar o sistema de reprodução de uma espécie pode ser feito a partir de três abordagens. A primeira abordagem se baseia na realização de análises de paternidade, comparando o genótipo materno com a segregação de sua progênie (Coates et al., 2007). A segunda abordagem se baseia no Equilíbrio de Wright ou de Endogamia, em que a taxa de fecundação cruzada ($t = 1 - s$) é estimada pelo coeficiente de endogamia [$F = s(2 - s)$] (David et al., 2007). A última abordagem refere-se ao modelo misto de cruzamento, em que Ritland & Jain (1981) desenvolveram um algoritmo que permite estimar os valores da taxa de fecundação cruzada e a frequência do pólen simultaneamente, usando genótipos compostos (vários locos) para determinar a quantidade de progênies geradas por autofecundação e por fecundação cruzada. Essa

última abordagem é a mais difundida para avaliação do sistema de reprodução em plantas a partir de marcadores moleculares (Clegg, 1980).

O sistema de reprodução, juntamente com os mecanismos de dispersão de pólen e sementes, tem papel fundamental na determinação da estrutura genética espacial e temporal das populações e ajuda a entender a distribuição da variação genética entre os indivíduos (Loveless & Hamrick, 1984; Hamrick & Godt, 1996). Observou-se que em espécies predominantemente alógamas a maior parcela da variação genética encontra-se dentro de populações, enquanto que, em espécies autógamas a maior parte da variação encontra-se entre as populações (Murawski & Hamrick, 1991).

Além disso, informações a respeito do sistema de reprodução são de fundamental importância na implementação de programas de melhoramento e conservação genética (Boshier et al., 1995; Souza et al., 2003). Com as informações do sistema de reprodução é possível estabelecer estratégias adequadas que otimizem a amostragem da variabilidade genética (Brown, 1990; Boshier et al., 1995; Martins et al., 2006).

3.3 DIVERSIDADE GENÉTICA E FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO

A diversidade genética é um dos atributos mais importantes de uma população, pois é matéria prima para os processos evolutivos. Essa diversidade confere a uma população a habilidade de se adaptar às mudanças ambientais bem como às diferentes situações ecológicas como predação, competição e interação com agentes patogênicos (Amos & Harwood, 1998). Sendo assim, é indispensável para a manutenção do potencial evolutivo e valor adaptativo das espécies (Frankhan et al., 2008). A diversidade e estrutura genética atual de uma população são reflexo de diversos fatores evolutivos e históricos tais como mutação, seleção, deriva genética e fluxo gênico (Crowhurst et al., 2011).

A magnitude da variabilidade genética pode ser estimada, basicamente por três parâmetros: a proporção de locos polimórficos, o número médio de alelos por loco polimórfico e a frequência de heterozigiosidade esperada na condição de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Berg & Hamrick, 1997). Fatores como a endogamia, deriva genética ou seleção podem alterar a frequência de certos alelos, causando a formação de grupos divergentes dentro das populações. No entanto, esta diferenciação pode ser

contrabalanceada pela presença de fluxo gênico, uma vez que espécies com intenso movimento de pólen e sementes têm menor diferenciação genética entre populações do que espécies com fluxo gênico restrito (Loveless & Hamrick, 1984).

O termo fluxo gênico é utilizado para descrever os mecanismos que resultam na movimentação de genes dentro de populações e entre populações (Slatkin, 1985). De acordo com Sork et al. (1999), uma pequena quantidade de fluxo gênico a longas distâncias é capaz de retardar a diferenciação entre populações quando se consideram os alelos neutros. Sendo assim, o fluxo gênico funciona de forma antagonista aos fatores evolutivos como mutação e seleção, pois enquanto esses fatores tendem a diferenciar as populações o fluxo gênico tende a homogeneizá-las (Slatkin, 1995).

O papel do fluxo gênico na distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações dependerá da força dos demais fatores evolutivos e da distribuição geográfica da espécie (Slatkin, 1985). Em espécies com altas taxas de fluxo gênico haverá mais variação genética dentro das populações do que entre as populações uma vez que o fluxo gênico as homogeneiza, por outro lado se o fluxo gênico é mais restrito as populações tenderão a ser mais diferenciadas entre si (Hamrick & Nason, 2000).

O fluxo gênico em populações de plantas ocorre durante as gerações gametofíticas e esporofíticas, tanto pela dispersão do pólen quanto de semente (Levin & Kerster, 1974). Porém, é necessário considerar que a dispersão de pólen e semente só acarretará em fluxo gênico efetivo se o grão de pólen migrante resultar no estabelecimento de um embrião ou se as sementes migrantes se estabelecerem na população receptora (Hamrick & Nason, 2000).

As espécies de plantas apresentam uma grande diversidade de sistemas reprodutivos, desde aqueles envolvendo reprodução assexuada até os sistemas de autogamia e alogamia (Solbrig & Solbrig, 1979). Dessa forma o fluxo de genes via pólen tanto dentro como entre populações dependerá da estrutura reprodutiva das espécies, sendo praticamente nulo em casos de reprodução assexuada e ocorrendo de diferentes modos e graus no caso de populações com reprodução sexuada (Jain, 1982). Em plantas com polinização ou dispersão de sementes por animais, as limitações dos agentes polinizadores e dispersores de semente em populações fragmentadas podem levar a uma redução da variabilidade genética, aumento da diferenciação entre populações e ao aumento dos níveis

de endocruzamento (Franklin, 1980), já que o fluxo gênico, representado pelo movimento de pólen e de sementes, é um dos fatores que mantém a diversidade genética dentro das populações (Slatkin, 1994). Além disso, a falha na dispersão de pólen não afeta somente a estrutura da população, mas também o sucesso reprodutivo de espécies auto-incompatíveis que dependem exclusivamente dos polinizadores para se reproduzirem (Kenta et al., 2004).

O fluxo gênico pode ser estudado de duas formas distintas, por abordagens diretas, que fornecem estimativas atuais, ou indiretas, que indicam níveis de fluxo gênico histórico. É possível estimar taxas de fluxo gênico por métodos diretos de diversas maneiras, os primeiros estudos utilizando essas abordagens foram feitos por meio da observação do movimento de agentes polinizadores e dispersores de sementes marcados com corantes (Slatkin, 1985; Ouborg et al., 1999), porém esses estudos fornecem resultados indicativos das distâncias de dispersão de pólen e semente, eles não permitem identificar se o fluxo gênico foi efetivo.

As abordagens indiretas se baseiam na obtenção de estimativas de números de migrantes por geração, por meio da distribuição da diversidade genética entre populações, em uma escala temporal (Sork et al., 1990; Hamrick & Nason, 2000). Esse tipo de abordagem é baseada no modelo de “ilhas”, no qual a migração ocorre entre subpopulações, nesse modelo a migração é multidirecional porque as subpopulações são consideradas com o mesmo tamanho efetivo (Wright, 1940). Para tanto, a distribuição alélica é quantificada e um modelo genético populacional é aplicado para estimar qual a taxa de fluxo gênico seria capaz de gerar uma distribuição de alelos similar.

Segundo Sork et al. (1999) a melhor abordagem para se estimar a fluxo gênico efetivo é por meio de análise de paternidade com marcadores moleculares. Nesse caso utiliza-se uma progênie cuja matriz é conhecida para se inferir a paternidade em um conjunto de potenciais doadores de pólen. Este método de estimação do fluxo gênico é extremamente atrativo, pois permite identificar os prováveis pais envolvidos nos cruzamentos, conhecer sobre o sucesso reprodutivo dos indivíduos, detectar contaminação de pólen externo e inferir sobre os padrões de dispersão do pólen e sementes (Lian et al., 2001; Wang, 2004; Robledo-Arnuncio & Gil, 2005). A resolução deste procedimento é dependente do número de locos polimórficos, número de alelos por loco, frequência alélica e número de pais potenciais (Zucchi, 2002).

Atualmente, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos a fim de determinar a dispersão contemporânea de pólen e sementes dentro de populações arbóreas com base em marcadores moleculares altamente polimórficos, como microssatélites (Sato et al., 2006; Bittencourt & Sebbenn, 2007; Lacerda et al., 2008; Carneiro et al., 2009; Nakanishi et al., 2009; Barluenga et al., 2010; Collevatti et al., 2010; Gaino et al., 2010; Moraes & Sebbenn, 2010; Sebbenn et al., 2011).

3.4 RECURSOS GENÉTICOS

Os recursos genéticos são definidos como o material genético de valor real ou potencial para o ser humano (Decreto legislativo nº. 2.519, de 16 de março de 1998). Os recursos genéticos vegetais compreendem plantas cultivadas e espécies silvestres com valor comprovado ou mesmo potencial e a manutenção desses recursos realiza-se por meio do estabelecimento de áreas de proteção ambientais e pela coleta e manutenção *in situ* e *ex situ* desses materiais (Walter & Cavalcanti, 2005).

Segundo a FAO (1984), é importante apontar a diferença entre um recurso genético que tem valor atual ou potencial. O recurso genético atual seria a variabilidade intraespecífica de uma planta empregada corretamente para as necessidades humanas, ou de outras espécies que podem ser usadas para o melhoramento daquelas plantas. Um recurso genético potencial seria a variabilidade que poderia contribuir a um fundo de genes com técnicas melhoradas, ou também espécies que não se empregam na atualidade, mas que podem sê-lo no futuro.

Os elementos dos recursos genéticos que representam a variabilidade dentro de cada espécie (variabilidade intraespecífica), com fins de utilização em programas de melhoramento e em biotecnologia, denomina-se germoplasma. Segundo Vencovsky et al. (2007), o germoplasma representa um aglomerado de fatores genéticos organizados de sorte a dar a populações de plantas e seus indivíduos as condições necessárias para sua sobrevivência em seu meio ambiente.

A manutenção adequada de germoplasma depende, em grande parte, da avaliação e caracterização da variabilidade genética contida no mesmo. Esta avaliação contribui para prevenção de possíveis perdas genéticas, como as que podem acontecer

durante as multiplicações dos acessos coletados e, possibilitam o estabelecimento dos sítios ou áreas de coletas que contenham maior variabilidade. A avaliação da variabilidade genética em germoplasma depende da disponibilidade de marcadores polimórficos e neutros do ponto de vista do efeito ambiental. Neste sentido, avaliações de variabilidade genética em germoplasma de plantas realizam-se utilizando vários marcadores baseados na análise direta do DNA (Powell et al., 1995; Galgaro et al., 1998; León et al., 1998; Gimenes et al., 2000, Manifesto et al., 2001).

No sentido de conservar a biodiversidade dos trópicos, nas últimas décadas aumentou-se a percepção da necessidade de preservar as espécies animais e vegetais do Cerrado ameaçadas de extinção, com especial atenção àquelas com potencial econômico, como as frutíferas. Para tanto, várias pesquisas são conduzidas para conhecer melhor as espécies sob os aspectos genético, ecológico, fisiológico, e ainda, preservar os recursos genéticos (Costa, 2004).

Conservar é manter todas as combinações de genes resultante da evolução de uma espécie, nesse sentido, Frankel & Bennett (1970) colocam que a estratégia de conservação depende da natureza do material e do objetivo e escopo da conservação. As estratégias básicas para manutenção de recursos genéticos passam pela conservação *in situ* e *ex situ*. A conservação *in situ* refere-se à manutenção das espécies selecionadas no seu habitat natural em parques, reservas biológicas ou reservas ecológicas, estas populações em áreas naturais são consideradas reservas genéticas e nelas não ocorre interrupção dos processos evolucionários das espécies, ficando as mesmas submetidas a efeitos ambientais e a ação antrópica. Já na conservação *ex situ* coletam-se sementes, estacas, órgãos subterrâneos e brotos, em seus habitats ou lugares de disponibilidade, que são devidamente identificadas para representar a sua população de origem. Na conservação *ex situ*, portanto ocorre conservação de espécies vegetais fora do seu ambiente natural, em coleções de plantas no campo, de bancos de sementes ou de coleções de plântulas em bancos *in vitro* (Vieira, 1999).

Um programa de conservação de recursos genéticos de espécies nativas deve se basear prioritariamente na conservação *in situ* (Nass, 2011), porém a conservação *ex situ* é de suma importância para complementar esses programas, principalmente quando há populações com risco de erosão genética (Naves, 1999).

A eficiência e o sucesso de qualquer programa de conservação *in situ*, *ex situ* ou de melhoramento genético vegetal passam primeiro pela caracterização e avaliação dos bancos e coleções de germoplasma, para se estimar a diversidade genética presente nas coleções. Essa caracterização pode ser morfoagronômica, citológica, bioquímica, fisiológica ou molecular. Independente do método empregado, o importante é que os resultados possibilitem boa distinção dos acessos, permitam identificar duplicatas e também acessos com características relevantes para diversos programas de melhoramento (Conti et al., 2002).

3.5 MANUTENÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE COLEÇÕES DE GERMOPLASMA

No sentido de conservar a variabilidade genética são montadas as coleções de germoplasma que são repositórios de material genético e representam a manutenção parcial ou total dessa variabilidade de determinada espécie. O desenvolvimento das coleções de germoplasma é resultado de uma preocupação constante entre os profissionais envolvidos na conservação e melhoramento de plantas, que é a erosão genética ou perda de alelos (Sigrist, 2009). A perda de alelos diminui a variabilidade genética disponível, tornando o processo de seleção menos eficaz. Nesse sentido, as coleções de germoplasma são utilizadas tanto como “fonte genética” pelos melhoristas para desenvolver novas cultivares quanto como estratégia de conservação (Borém & Miranda, 2005).

Além disso, uma baixa variabilidade implica em uma maior vulnerabilidade a pragas, doenças e condições adversas (Yorinori & Kiihl, 2001). As coleções de germoplasma têm sido mantidas para: i) garantir a sua diversidade genética (seja pela iniciativa de coletar periodicamente recursos genéticos, seja por favorecer o intercâmbio com outras coleções de germoplasma); ii) multiplicá-las; iii) distribuí-las aos usuários e, iv) promover a sua caracterização por diferentes metodologias. Segundo Vasconcelos et al. (2007), cerca de 6,1 milhões de acessos de plantas são conservados em todo o mundo e esses acessos encontram-se dispostos em 1.320 coleções de germoplasma.

As coleções de germoplasma podem ser de diversos tipos: coleções de base, ativa, nuclear, de trabalho, coleção *in vitro*, a campo, em criopreservação e banco genômico. As coleções de base agrupam toda a variabilidade possível da espécie-alvo,

incluindo parentais selvagens, cultivares, variedades crioulas e elite. A coleção de base tem a finalidade de conservação do germoplasma em longo prazo. Nessas coleções são armazenadas sementes em condições de baixa umidade e temperatura. As coleções ativas fazem a conservação a curto e médio prazo, com a finalidade de gestão e distribuição do germoplasma. As coleções nucleares reúnem a maior variabilidade genética de uma espécie no menor número possível de amostras. Esse tipo de coleção tem a finalidade de facilitar a gestão e subsidiar a utilização do germoplasma por pesquisadores. Nas coleções *in vitro* os materiais disponíveis são células, órgãos e tecidos vegetais em meios de cultura que podem ser regenerados e aclimatados. Na conservação a campo as sementes são germinadas e a planta é mantida no campo, essa estratégia geralmente é adotada para espécies de propagação vegetativa, ou que apresentam sementes recalcitrantes. Na criopreservação o germoplasma é mantido em nitrogênio líquido para conservação de embriões e pólen de espécies que produzem sementes sensíveis a dessecação. Os bancos genômicos preservam a variabilidade através de DNA (Vallois, 1996; Santos & Salomão, 2007).

Embora as coleções de germoplasma sejam alvo de cuidados intensos, a variabilidade contida nessas coleções pode ser perdida em casos de incêndio e outras catástrofes naturais. Portanto, é fundamental recombinar variação genética em pomares de sementes e expandi-la por meio de reflorestamentos ambientais, essa estratégia garante maior conservação dessas espécies (Sebbenn et al., 2007). A transformação de bancos de germoplasma em pomares de sementes constitui-se uma estratégia eficiente para expandir a variação genética retida nos bancos. Nesse caso, as melhores árvores das melhores procedências e progênies são selecionadas para compor a população de recombinação nos pomares, além disso, as sementes podem ser utilizadas em reflorestamentos ambientais, contribuindo para a preservação das espécies na natureza. A recombinação, a partir de cruzamentos entre esses indivíduos selecionados, dá origem a sementes com qualidade genética superior para os caracteres usados na seleção (Siqueira et al., 1993; 2000; Etori et al., 1999; Freitas et al., 2006; 2007).

Diferente das estratégias de seleção utilizadas no melhoramento florestal, que visam à seleção de árvores superiores para caracteres de interesse econômico e causam a restrição e direcionamento da base genética no sentido desejado, a seleção em bancos de germoplasma deve ser realizada em baixa intensidade e apenas dentro de procedências e/ou

progênies. Assim, a variabilidade genética retida nos bancos será mantida, recombinada durante o processo de reprodução e expandida a partir de reflorestamentos realizados com sementes do pomar (Sebbenn et al., 2007).

A qualidade genética das sementes produzidas pelo pomar é influenciada pelo sistema de reprodução, taxa de autofecundação, contaminação por pólen não melhorado de fora do pomar, variações na fenologia de florescimento, variação individual na fertilidade masculina e distância de dispersão de pólen. Todos estes fatores podem reduzir a qualidade genética das sementes e os ganhos preditos para o pomar. Por isso estudos dos padrões de isolamento, reprodução e fluxo gênico são extremamente importantes para assegurar a qualidade genética das sementes produzidas em pomares de sementes (Ritland & El-Kassaby, 1985; Wang, 2004).

Embora pomares de sementes sejam geralmente isolados de plantios da mesma espécie, para evitar a contaminação por pólen externo não melhorado, e implantados seguindo delineamentos específicos, que favorecem a reprodução por grande número de diferentes genótipos, vários estudos têm revelado intensa contaminação por pólen externo, auto-fecundações e desvios de cruzamentos aleatórios (Plomion et al., 2001; Burczyk et al., 2004; Grattapaglia et al., 2004; Kaya et al., 2006).

Os padrões de isolamento e dispersão de pólen em pomares de sementes são geralmente avaliados utilizando-se análises de paternidades. Este tipo de análise permite verificar o grau de isolamento do pomar, quantificar a taxa de autofecundação, descrever a distância e os padrões do fluxo gênico, bem como avaliar a contribuição polínica efetiva dos indivíduos para as sementes (Wendt et al., 2009).

Nesse sentido os marcadores microssatélites ou SSR (sequências simples repetidas) têm sido altamente utilizados em estudos com espécies nativas devido à sua reprodutibilidade e por apresentarem alto polimorfismo (Meyer, 1995; Schlötterer, 1992). São ideais para mapeamento genético, identificação e discriminação de genótipos e estudos de genética de populações (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Além disso, a codominância aliada ao alto nível de polimorfismo torna os microssatélites ideais para análise de sistemas de cruzamento em plantas, determinação da origem do pólen e conseqüentemente o quanto de fecundação cruzada e de autofecundação ocorre dentro de uma população ou progênie.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

A coleção de germoplasma de *Hancornia speciosa* foi implantada na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás em dezembro 2005, utilizando mudas produzidas a partir de sementes coletadas em outubro e novembro de 2004. A coleção é constituída por progênes de polinização aberta originadas de 109 plantas amostradas em 32 populações naturais do Cerrado brasileiro em cinco estados: Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Bahia (Figura 5). Há na coleção atualmente 274 indivíduos de quatro variedades botânicas: *Hancornia speciosa* var. *pubescens*, *H. speciosa* var. *gardneri*, *H. speciosa* var. *speciosa* e *H. speciosa* var. *cuyabensis*. A coleção da EA/UFG (Figura 6) está localizada no município de Goiânia, GO (16°35'12" S; 49°21'14" W; 730 m de altitude) e os indivíduos da espécie estão distribuídos conforme delineamento experimental de blocos completos casualizados com 57 tratamentos (progênes), quatro repetições e uma planta por parcela no espaçamento de 5 x 6 m (Ganga et al., 2009).

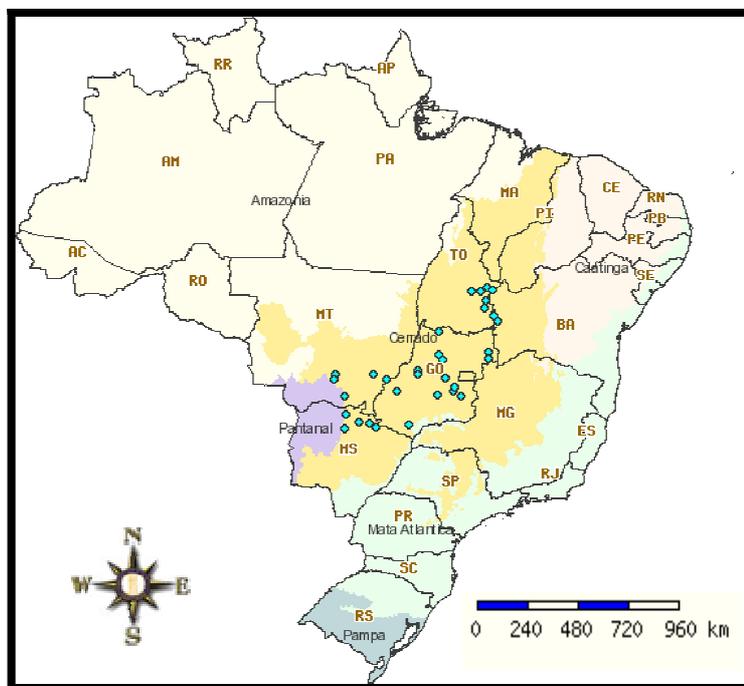
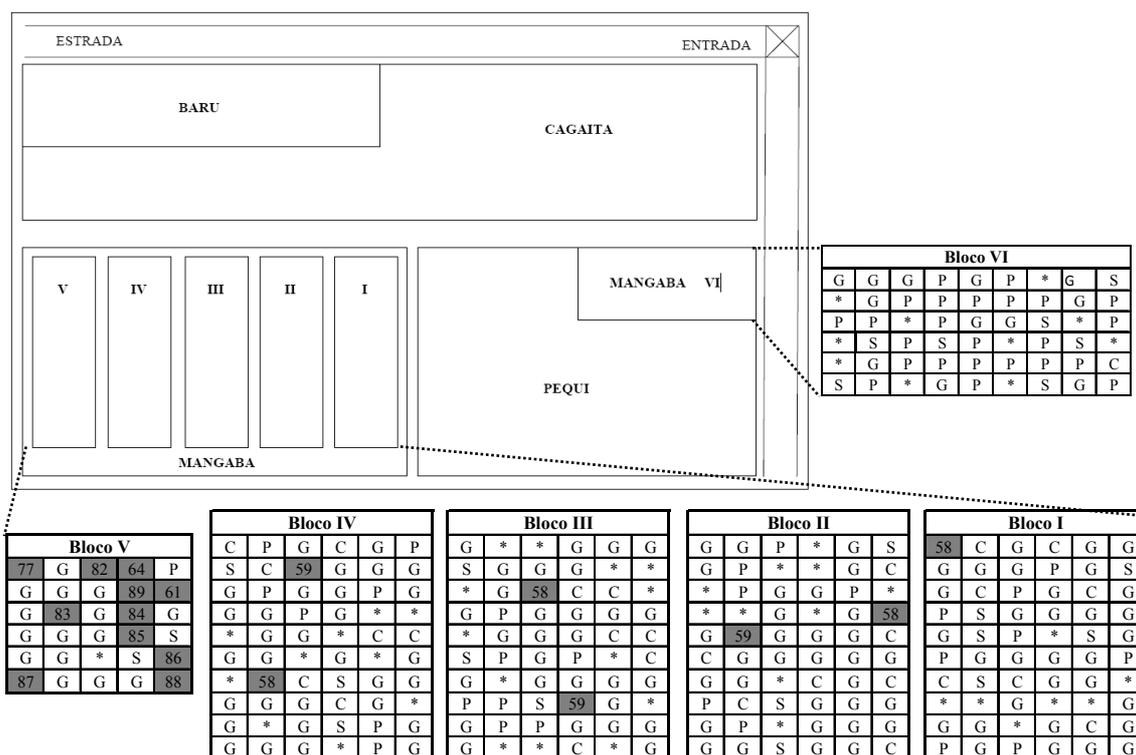


Figura 5. Mapa do Brasil com a distribuição das 32 populações onde os indivíduos foram coletados para implantação da coleção de germoplasma.



■ Indivíduos sem informação de variedade * Indivíduos que morreram.

G = *H. speciosa* var. *gardneri*, P = *H. speciosa* var. *pubescens*, C = *H. speciosa* var. *cuyabensis*,

S = *H. speciosa* var. *speciosa*.

Figura 6. Coleção de frutíferas nativas do Cerrado da EA/UFG, demonstrando a disposição da coleção de *H. speciosa* e distribuição das plantas por variedade.

Para a caracterização da diversidade genética e avaliação da ocorrência de fluxo gênico na coleção foram coletadas amostras foliares de todos os 274 indivíduos presentes, que constituíram os prováveis doadores de pólen para o experimento de fluxo gênico. Foram escolhidas, dentre as plantas que estavam frutificando, 28 plantas adultas (matrizes) e de cada uma delas foram coletados 20 frutos para as análises de fluxo gênico. Dentre as matrizes havia 14 de *H. speciosa* var. *gardneri*, 7 de *H. speciosa* var. *pubescens* e 7 de *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Como *H. speciosa* var. *speciosa* não frutificou no ano desse estudo não foi possível amostrar seus frutos para as análises de fluxo gênico.

Após o amadurecimento dos frutos colhidos as sementes foram retiradas manualmente para o plantio, para separar as sementes da polpa foi utilizada uma peneira e água corrente. Foi plantada uma semente de cada fruto, totalizando 560 sementes, as

sementes foram plantadas em tubetes identificados contendo substrato pronto Quali Fibra (Chão Preto Misturadora Agrícola) em estufa telada na EA/UFG (Figura 7). O plantio seguiu delineamento experimental de blocos completos casualizados. Esse delineamento foi escolhido, pois as progênies plantadas também foram utilizadas para avaliação de caracteres quantitativos.



Figura 7. Preparo das sementes para plantio. A) Separação manual das sementes; B) Plantio em tubetes identificados; C) Estufa telada com o plantio das 560 sementes (Fonte: Autora).

4.2 EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM

As folhas coletadas de todos os indivíduos adultos e das plântulas foram armazenadas em sílica gel por cerca de três dias para secagem e posteriormente o DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo de extração de DNA vegetal com CTAB 2%, com adaptações (Anexo 1) (Doyle & Doyle, 1987). As amostras foram quantificadas em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo. Para a quantificação do DNA extraído utilizou-se o marcador de peso molecular *Low DNA Mass Ladder (Invitrogen)*. As amostras de cada indivíduo foram preparadas com a adição de tampão de carregamento e posteriormente submetidas à eletroforese horizontal em gel de agarose 1% contendo brometo de etídeo, a uma voltagem constante de 80 V, durante duas horas. O gel após o tempo de corrida foi visualizado em luz ultravioleta e fotografado com o auxílio de um fotodocumentador. Após a quantificação, o DNA de todas as amostras foi diluído para uma concentração final de 5ng/μL e armazenados a -20°C.

Para a genotipagem foram feitas reações de amplificação via PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) com o DNA de cada indivíduo utilizando sete locos microssatélites desenvolvidos para *H. speciosa* por Rodrigues (2009) (Tabela 1). Nessa etapa os locos

foram marcados com fluorescência 6-FAM, HEX e NED. As reações foram preparadas a partir de um coquetel de reagentes para um volume final de 15 µl, contendo cerca de 10 ng de DNA genômico, 1X tampão da enzima (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂), 0,21 mM dNTPs; 2,16 mg BSA, 2,16 mM de cada *primer* (*forward* e *reverse*) e 1U de *Taq* DNA polimerase (Phoneutria, MG).

Tabela 1. Locos microssatélite utilizados no estudo e suas características. TA: temperatura de anelamento, IVA: intervalo de variação alélica de cada loco.

Loco	Motivo	Tipo do microssatélite	TA	IVA
Hs 01	(GCA) ₆ (TC) ₂₀ (GCA) ₈	Composto	48°C	236-290
Hs 05	(GA) ¹⁵ (TGC) ⁶	Composto	48°C	160-222
Hs 06	(GA) ¹⁴	Perfeito	46°C	106-142
Hs 08	(CA) ⁶ (CT) ¹⁷	Composto	42°C	232-284
Hs 11	(GA) ¹⁷	Perfeito	44°C	130-132
Hs 16	(GA) ¹²	Perfeito	58°C	106-148
Hs 30	(AG) ¹⁰	Perfeito	56°C	194-200

A amplificação do DNA via PCR foi feita a partir do seguinte programa: 1ª etapa – um ciclo de desnaturação do DNA a 95°C por 5 minutos. 2ª etapa – 30 ciclos compostos por três passos cada um: desnaturação a 95°C por 1 minuto, anelamento dos *primers* ao DNA a uma temperatura específica por 1 minuto, extensão da molécula pela enzima *Taq* DNA polimerase a 72°C por 1 minuto. 3ª etapa – extensão final da fita a 72°C por 30 minutos. A extensão foi mais longa para que a *Taq* DNA polimerase adicione a base adenina no maior número possível de fragmentos, o que diminui os erros de genotipagem.

Os produtos das amplificações foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 3% para verificação da amplificação dos fragmentos. Após a verificação os produtos da PCR foram unidos em *multiplex* de aplicação (Tabela 2) e então genotipados em sequenciador automático de DNA ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, CA). As

amplificações foram diluídas sempre que necessário e foram adicionados 0,25 µL de padrão interno GeneScan 500 *internal lane standard* (ROX, Applied Biosystems, CA) e 8,75 µL de formamida deionizada. As amplificações foram então aquecidas a 95°C por 5 minutos para desnaturação, colocadas em gelo imediatamente após e submetidas à eletroforese no sequenciador. Os fragmentos foram analisados automaticamente para a atribuição do tamanho dos alelos usando o programa GENEMAPER (Applied Biosystems, CA) e depois conferidos manualmente para certificar uma atribuição correta.

Tabela 2. *Multiplex* formadas para genotipagem em sequenciador dos indivíduos de *H. speciosa*.

<i>Multiplex 1</i>		<i>Multiplex 2</i>	
Loco (Fluorocromo)	Amplitude	Loco (Fluorocromo)	Amplitude
Hs 01 (HEX)	236 – 290	Hs 06 (NED)	106 – 142
Hs 05 (NED)	160 – 222	Hs 08 (6-FAM)	232 – 284
Hs 11 (HEX)	130 – 132	Hs 16 (6-FAM)	106 – 148
		Hs 30 (HEX)	194 – 200

4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

4.3.1 Caracterização da variabilidade genética existente nos indivíduos adultos e nas progênes da coleção de germoplasma de *H. speciosa*.

Para caracterizar a variabilidade genética existente nos indivíduos adultos e na progênie da coleção de germoplasma de *H. speciosa*, foram estimados o número de alelos por loco, as frequências alélicas e genotípicas, bem como a heterozigosidade observada e esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada loco e para todos os locos em conjunto com a utilização do programa F_{STAT} 2.9.3.2 (Goudet, 1995; 2002). A heterozigose esperada (*He*) foi estimada seguindo o proposto por Nei (1978):

$$He = 1 - \sum_{i=1}^r x_i^2 \cdot \frac{2n}{(2n-1)}$$

A partir das frequências alélicas obtidas dos indivíduos adultos e a fim de conhecer o poder de discriminação dos locos, foram estimados dois parâmetros importantes para estudos de parentesco e paternidade: a) probabilidade de identidade genética (*I*) (Paetkau et al., 1995), que é a probabilidade de dois indivíduos amostrados ao

acaso serem idênticos para um mesmo loco; b) probabilidade de exclusão de paternidade (Q) (Weir, 1996), que é o poder de determinado loco excluir um indivíduo que tenha sido designado como pai erroneamente. Adicionalmente, também foi estimada a probabilidade de identidade genética combinada, $IC = \prod I_i$ e a probabilidade de exclusão de paternidade combinada, $QC = 1 - \prod(1 - Q_i)$, para todos os locos caracterizados. Estas estimativas foram obtidas utilizando o software Identity 1.0 (Wagner & Sefc, 1999).

Para comparar as diferenças encontradas nos valores de heterozigosidade observada e esperada sobre o equilíbrio de Hardy-Weinberg, entre os adultos e suas progênes, foram feitos testes de permutação (10000 permutações) utilizando o programa F_{STAT} 2.9.3.2 (Goudet, 1995; 2002).

4.3.2 Caracterização da variabilidade genética existente nas variedades botânicas presentes na coleção de germoplasma de *H. speciosa*.

Para caracterizar a variabilidade genética existente nas quatro variedades botânicas de *H. speciosa* presentes na coleção, os indivíduos adultos foram separados por variedade. Para cada variedade foi estimado o número de alelos por loco, as frequências alélicas, a heterozigosidade observada e esperada para cada loco e para todos os locos.

Para comparar os valores de heterozigosidade observada e heterozigosidade esperada sobre o equilíbrio de Hardy-Weinberg, entre variedades, foram feitos testes de permutação (10000 permutações) utilizando o programa F_{STAT} 2.9.3.2 (Goudet, 1995; 2002), entre os pares de grupos: *gardneri* e *pubescens*, *gardneri* e *cuyabensis*, *gardneri* e *speciosa*, *pubescens* e *cuyabensis*, *pubescens* e *speciosa*, *cuyabensis* e *speciosa*.

4.3.3 Análise do sistema reprodutivo

O sistema de reprodução de *H. speciosa* foi analisado com base nos modelos de reprodução misto e cruzamentos correlacionados, que assumem que as progênes resultam de uma mistura de autofecundação e fecundação cruzada, para essas análises foram utilizado o programa “Multilocus MLTR” (Ritland, 2002). O modelo misto descrito por Ritland & Jain (1981) pressupõe que: 1) o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento de todos os genótipos maternos; 2) todas as plantas têm a mesma capacidade de gerarem descendentes (fecundidade igual); 3) os locos estão em equilíbrio de ligação

(os alelos de diferentes locos segregam independentemente); 4) os locos avaliados não sofreram seleção ou mutação entre o período de fertilização e a análise dos indivíduos.

Os parâmetros estimados foram: taxa de fecundação cruzada multiloco (\hat{t}_m); taxa de fecundação cruzada uniloco (\hat{t}_s); endogamia biparental ou taxa de fecundação cruzada entre indivíduos aparentados ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$); coeficiente de endogamia dos genótipos maternos (\hat{F}_m); correlação multiloco de paternidade (\hat{r}_p); correlação de autofecundação (\hat{r}_s); frequências alélicas do óvulo e do pólen envolvidos nos cruzamentos. Para todas as estimativas, os intervalos de confiança (95%) foram obtidos por meio de 1000 reamostragens do tipo *bootstrap*.

A comparação entre as frequências alélicas do pólen (p_p) e dos óvulos (p_o) foi feita com base na estimativa da estatística F_{ST} (Nei, 1977), da seguinte forma:

$$F_{ST} = 1 - \frac{\hat{H}_e}{\hat{H}_{e(média)}} \text{ em que:}$$

$$\hat{H}_{e(óvulo)} = 1 - \sum_{i=1}^k p_o^2$$

$$\hat{H}_{e(pólen)} = 1 - \sum_{i=1}^k p_p^2$$

$$\hat{H}_{e(média)} = 1 - \sum_{i=1}^k p_m^2$$

$$\hat{H}_e = \frac{\hat{H}_{e(óvulo)} + \hat{H}_{e(pólen)}}{2}$$

Para testar se as frequências alélicas do óvulo e do pólen são homogêneas, foi feito um teste qui-quadrado como proposto por Workman & Niswander (1970),

$$X^2 = 2nF_{ST}(k-1) ; GL = (k-1)(s-1)$$

em que n é o número de indivíduos, k o número de alelos, s o número de grupos testados.

A partir das estimativas do sistema de cruzamento obtidas foi possível estimar outros parâmetros demográficos e genéticos da coleção de germoplasma. O número efetivo de doadores de pólen isto é: o tamanho da vizinhança reprodutiva foi calculado a partir da

$$\text{correlação multiloco de paternidade } (r_{p(m)}): \hat{N}_{ep} = \frac{1}{\hat{r}_{p(m)}} .$$

Calculou-se também a proporção de meios irmãos $\hat{P}_{mi} = t_m(1 - r_{(p)})$ e de irmãos germanos $\hat{P}_{ic} = t_m \times r_p$.

O coeficiente médio de coancestria (θ_{xy}) foi obtido a fim de conhecer o parentesco entre os indivíduos da progênie em estudo, a partir do coeficiente de parentesco da progênie (r_{xy}), da seguinte forma:

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

em que: \hat{F} é o coeficiente de endogamia nas matrizes, \hat{s} é a taxa de autofecundação, \hat{t} é a taxa de fecundação cruzada multiloco, \hat{r}_p é a correlação multiloco de paternidade e \hat{r}_s é a correlação de autofecundação. Sabendo-se que em espécies diplóides, na ausência de endogamia, o coeficiente de coancestria (θ_{xy}) é a metade do coeficiente de parentesco (r_{xy}), temos que: $\theta_{xy} = \frac{r_{xy}}{2}$

Para determinar a representatividade genética das progênies, o tamanho efetivo de variância da progênie foi estimado tendo como base a variância amostral das frequências alélicas (Cockerham, 1969), da seguinte forma:

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

Para a conservação de espécies frutíferas do Cerrado, como *H. speciosa*, devido suas características de vida longa e sobreposição de gerações, deve-se procurar reter um tamanho efetivo de pelo menos 100. A partir da estimativa do tamanho efetivo de variância, estimou-se o número mínimo de matrizes necessárias para reter um tamanho efetivo ($Ne_{(ref)}$) igual a 100, sendo este número calculado de acordo com o

apresentado por Sebbenn (2000), da seguinte forma: $m = \frac{Ne_{(ref)}}{Ne_{(v)}}$.

A diferenciação global do *pool* gênico do pólen entre as árvores matrizes foi estimado a partir do número efetivo de doadores de pólen, segundo Smouse et al. (2001) da seguinte maneira: $\Phi_{ft} = \frac{r_p}{2}$.

4.3.4 Análise de fluxo gênico contemporâneo

Para determinar a distância de fluxo de pólen, a ocorrência de fluxo entre variedades e a ocorrência de imigração de pólen externo foram feitas análises de paternidade utilizando o programa CERVUS 3.0 (Kalinowski et al., 2007). Para determinar os possíveis doadores de pólen, para as 320 sementes avaliadas, foram utilizados como candidatos todos os indivíduos adultos, incluindo as matrizes.

O programa CERVUS 3.0 permite inferir a paternidade por meio da razão de verossimilhança (*likelihood ratio*, LR) entre as probabilidades de duas hipóteses alternativas para cada candidato doador de pólen $LR = \frac{H_1}{H_0}$, de modo que hipótese H_1 representa o candidato doador de pólen verdadeiro e H_0 representa um candidato doador de pólen de ocorrência aleatória na população.

Para cada candidato é calculada um LR total, por multiplicação das LR de cada loco individual, assumindo-se segregação independente entre locos. O logaritmo natural (\ln) deste LR total é denominado de *LOD score*. Um *LOD score* positivo indica que o candidato é mais provável de ser o doador de pólen verdadeiro, do que o outro selecionado aleatoriamente. Quando dois ou mais candidatos apresentaram um *LOD score* positivo, uma estatística Δ (delta) foi aplicada. Essa estatística é definida como sendo a diferença do *LOD score* entre o doador de pólen mais provável (maior *LOD score* positivo) e o segundo doador de pólen mais provável (segundo maior *LOD score* positivo). A significância dos valores de Δ é testada por testes de paternidade simulados pelo próprio programa.

A simulação utiliza as frequências alélicas observadas na população para simular dados genéticos e conduzir testes de paternidade para um grande número de progênies, com o objetivo de gerar distribuições do Δ . As simulações levam em conta o número de candidatos doadores de pólen, a proporção amostrada de candidatos doadores

de pólen, a proporção de locos que foram genotipados nos indivíduos e a frequência de erros de genotipagem. Na etapa final da simulação são gerados valores críticos de Δ , de modo que a significância dos valores de Δ encontrados nos testes de paternidade conduzidos na população estudada possa ser determinada. Foram feitas duas simulações, uma admitindo autofecundação e a outra não, ambas foram utilizadas na análise de paternidade para verificar a ocorrência de eventos de autofecundação.

A árvore candidata a doador de pólen com o maior *LOD score* foi indicada quando a diferença entre o seu *LOD score* e o do segundo candidato (*A score*) for maior do que o Δ crítico (Marshall et al., 1998). Os parâmetros usados nas inferências de paternidade com o programa CERVUS foram os seguintes: admitiu-se que cada semente tinha 274 prováveis doadores de pólen (todos os indivíduos adultos da coleção); que a proporção de árvores adultas amostradas foi 95% (pois pode haver indivíduos da espécie nos arredores da coleção de germoplasma); que a proporção de locos genotipados foi de 100% e que a taxa de erro de genotipagem foi de 0,01. Foram usadas 10.000 repetições nas simulações e os níveis de confiança restrito de 95% e relaxado de 90%, para determinar o verdadeiro doador de pólen.

Após serem feitas as atribuições de paternidade foi possível estabelecer as distâncias de fluxo gênico via pólen, a partir das distâncias físicas entre doadores e receptores de pólen na coleção e se houve migração de pólen externo à coleção. Também foi possível determinar se houve fluxo gênico entre variedades botânicas e se a espécie apresenta eventos de autofecundação ou se é de fato autoincompatível como relatado por Darrault & Schindwein (2006).

A área efetiva média de vizinhança de polinização (\hat{A}_{ep}) foi calculada para cada árvore matriz a partir da variância da dispersão de pólen, assumindo uma área circular central ao redor da árvore matriz, de forma que: $\hat{A}_{ep} = \frac{\hat{N}_{ep}}{\hat{d}}$, em que: \hat{d} é a densidade de árvores reprodutivas por área.

Assumindo que a dispersão de pólen é circular e homogênea ao redor de uma árvore materna, pode-se estimar o raio efetivo de fluxo de pólen de uma árvore materna

(\hat{r}_{ep}) da área de vizinhança efetiva de polinização (\hat{A}_{ep}) da seguinte forma: $\hat{r}_{ep} = \sqrt{\frac{\hat{A}_{ep}}{\Pi}}$.

Sabendo-se quem é o doador de pólen e sua distância física até a matriz foi gerada uma distribuição de frequência das distâncias de dispersão de pólen utilizando o programa STATISTICA (Statsoft, 2005). Foram gerados dois gráficos, um deles contendo as atribuições com 90% de nível de confiança e o outro com 95% de nível de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EXISTENTE NOS ADULTOS E EM SUAS PROGÊNIES

Foi possível obter os genótipos dos 274 indivíduos adultos presentes na coleção de germoplasma de *H. speciosa*. Para os sete locos analisados nesses indivíduos, o número médio de alelos foi igual a 18,6 e variou entre 2 e 27 alelos por loco (Tabela 3). Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) variaram de 0,307 a 0,928 com média igual a 0,782. Enquanto a heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,307 a 0,779 com média igual a 0,606 (Tabela 3). Os valores encontrados podem ser considerados altos quando comparados a outras coleções de germoplasma, por exemplo: Rodrigues (2012) ao caracterizar a variabilidade genética da coleção de *Eugenia dysenterica* encontrou um menor número médio de alelos por loco (11), além de menores valores de heterozigosidade esperada e observada para o conjunto de locos analisados (0,646 e 0,423 respectivamente). Na coleção de germoplasma da espécie amazônica *Myrciaria dúbia* (camu-camu), também foi encontrado um valor menor de alelos por loco (12,8) e uma heterozigosidade esperada de 0,797 (Rojas et al., 2011), que se assemelha à encontrada no estudo com *H. speciosa*.

Da mesma forma, os valores encontrados para o número de alelos foram altos quando comparados à populações de outras espécies do Cerrado como, por exemplo, *Lychnophora ericoides* com média de 8,6 alelos por loco (Rabelo et al., 2011); *Dipteryx alata* com 4,3 alelos por loco (Soares et al., 2012). Entretanto, esses valores foram similares a outras espécies, *Annona crassiflora* com média de 13,8 alelos por loco (Pereira et al., 2008) e *Caryocar brasiliense* com 16,1 alelos por loco (Collevatti et al., 1999); que embora tenham apresentado valores médios menores que *Hancornia speciosa* a variância no número de alelos por loco nessas espécies também foi menor.

Tabela 3. Caracterização da variabilidade genética dos indivíduos adultos da coleção de *H. speciosa*. A: número de alelos; *Ho* e *He*: valores de heterozigosidade observada e esperada; *I*: probabilidade de identidade; *Q*: probabilidade de exclusão de paternidade; *IC*: probabilidade de identidade combinada; *QC*: probabilidade de exclusão de paternidade combinada.

Loco	A	He	Ho	I	Q
Hs 01	27	0,926	0,734	0,010	0,846
Hs 05	27	0,928	0,756	0,010	0,850
Hs 06	19	0,927	0,779	0,010	0,849
Hs 08	20	0,884	0,740	0,024	0,766
Hs 11	2	0,307	0,307	0,528	0,129
Hs 16	21	0,927	0,637	0,010	0,849
Hs 30	4	0,580	0,292	0,218	0,351
Média	18,6	0,782	0,606	$IC= 3,34 \times 10^{-11}$	$QC=0,9999$

A probabilidade de identidade variou entre 0,01 e 0,52 por loco e a combinada para todos os locos foi baixa e igual a $3,34 \times 10^{-11}$ (Tabela 3). A probabilidade de exclusão de paternidade variou entre 0,129 e 0,850 por loco, com probabilidade combinada alta e igual a 0,9999 (Tabela 3). Os valores encontrados podem ser considerados bons para a realização de estudos de fluxo gênico, pois indicam que a bateria de locos é capaz tanto de discriminar indivíduos quanto de excluir a paternidade de um doador de pólen que não seja o verdadeiro (Collevatti et al., 1999; Collevatti et al., 2001; Braga et al., 2007).

Das 560 sementes plantadas 57% (320) germinaram, sendo que as sementes da matriz 13 não apresentaram germinação e as matrizes 1, 2, 3 e 4 apresentaram 95% de germinação (Tabela 4). A taxa de germinação média encontrada condiz com o encontrado na literatura, que é de aproximadamente 60% para sementes de frutos coletados imaturos (Parente & Machado, 1986). Das 320 sementes que germinaram foi possível obter o genótipo para os locos analisados para 298.

Tabela 4. Germinação das sementes por matriz.

Matriz	Variedade botânica	Nº de sementes geminadas	Porcentagem de germinação (%)
Matriz 1	<i>Gardneri</i>	19	95
Matriz 2	<i>Cuyabensis</i>	19	95
Matriz 3	<i>Gardneri</i>	19	95
Matriz 4	<i>Cuyabensis</i>	19	95

Matriz	Variedade botânica	Nº de sementes geminadas	Porcentagem de germinação (%)
Matriz 5	<i>Gardneri</i>	2	10
Matriz 6	<i>Gardneri</i>	15	75
Matriz 8	<i>Pubescens</i>	16	80
Matriz 9	<i>Pubescens</i>	14	70
Matriz 10	<i>Cuyabensis</i>	9	45
Matriz 11	<i>Gardneri</i>	13	65
Matriz 12	<i>Pubescens</i>	7	35
Matriz 13	<i>Cuyabensis</i>	0	0
Matriz 14	<i>Gardneri</i>	13	65
Matriz 15	<i>Pubescens</i>	8	40
Matriz 16	<i>Gardneri</i>	15	75
Matriz 17	<i>Gardneri</i>	3	15
Matriz 18	<i>Cuyabensis</i>	8	40
Matriz 19	<i>Gardneri</i>	5	25
Matriz 20	<i>Gardneri</i>	15	75
Matriz 21	<i>Pubescens</i>	6	30
Matriz 22	<i>Cuyabensis</i>	15	75
Matriz 23	<i>Gardneri</i>	8	40
Matriz 24	<i>Gardneri</i>	14	70
Matriz 25	<i>Cuyabensis</i>	18	90
Matriz 26	<i>Pubescens</i>	8	40
Matriz 27	<i>Gardneri</i>	8	40
Matriz 28	<i>Gardneri</i>	10	50
Total	-	320	57

O número de alelos amostrados nas progênes foi aparentemente menor do que o amostrado nos adultos da coleção e variou de 2 a 24 com média igual a 15,7 alelos por loco (Tabela 5), porém essa diferença não foi significativas ($p > 0,05$) (Tabela 6). Diferentemente do encontrado em *H. speciosa*, Feres et al. (2009) estudando uma coleção de germoplasma de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*, encontraram um número médio de alelos maior nas progênes (15,2) do que nos adultos (13,2) e uma heterozigosidade

observada maior na geração dos adultos. Neste trabalho as diferenças não foram testadas estatisticamente.

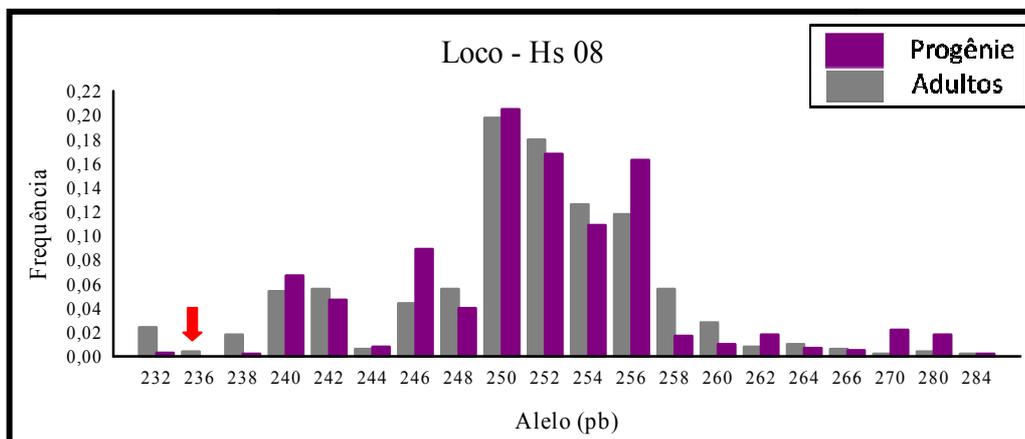
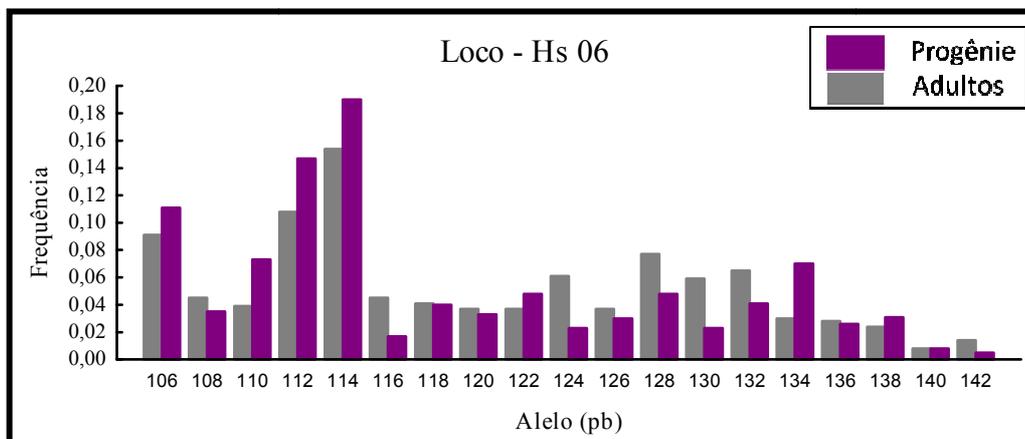
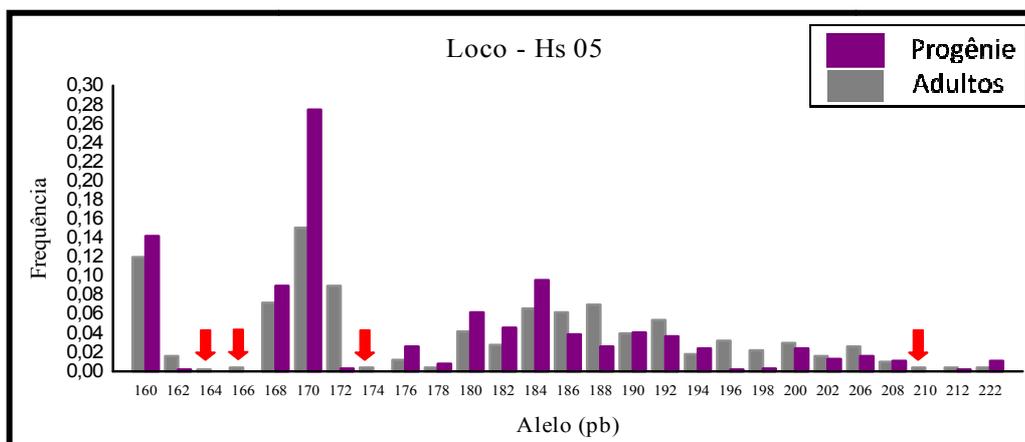
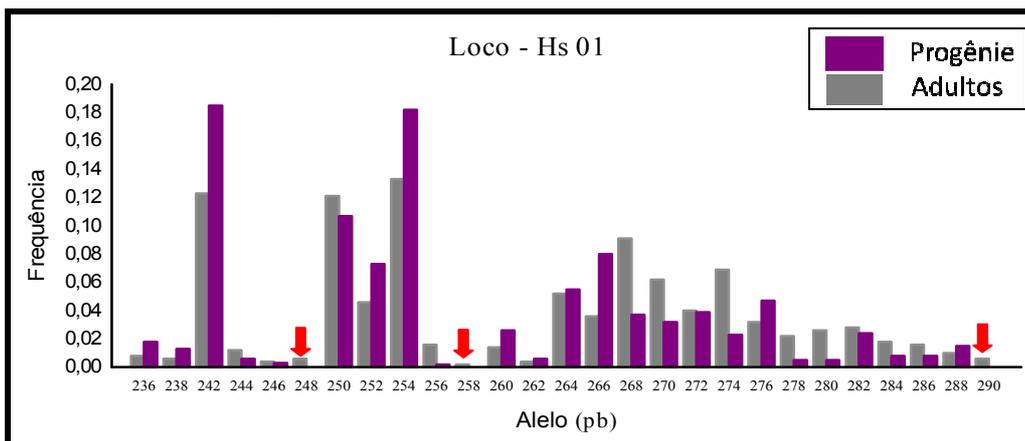
Tabela 5. Caracterização da variabilidade genética das progênies de *H. speciosa*. A: número de alelos; *Ho* e *He*: valores de heterozigosidade observada e esperada, respectivamente.

Loco	A	<i>He</i>	<i>Ho</i>
Hs 01	24	0,899	0,734
Hs 05	23	0,875	0,756
Hs 06	19	0,907	0,779
Hs 08	19	0,875	0,740
Hs 11	2	0,326	0,307
Hs 16	19	0,900	0,637
Hs 30	4	0,401	0,292
Média	15,7	0,740	0,606

Tabela 6. Comparação entre a variabilidade existente em adultos e progênies. A: número de alelos; *Ho* e *He*: valores de heterozigosidade observada e esperada, respectivamente; SD: desvio padrão.

	A	<i>He</i> (SD)	<i>Ho</i> (SD)
Adultos	18,6	0,782 (0,245)	0,606 (0,214)
Progênie	15,7	0,740 (0,258)	0,606 (0,214)

As frequências alélicas também apresentaram diferenças entre as gerações e alguns alelos foram encontrados apenas na geração dos adultos (Figura 8). Com exceção dos locos Hs 11 e Hs 30, a frequência dos alelos foi menor do que 0,3 e isso contribuiu para o grande número médio de alelos e valores consideravelmente altos de heterozigosidade encontrados.



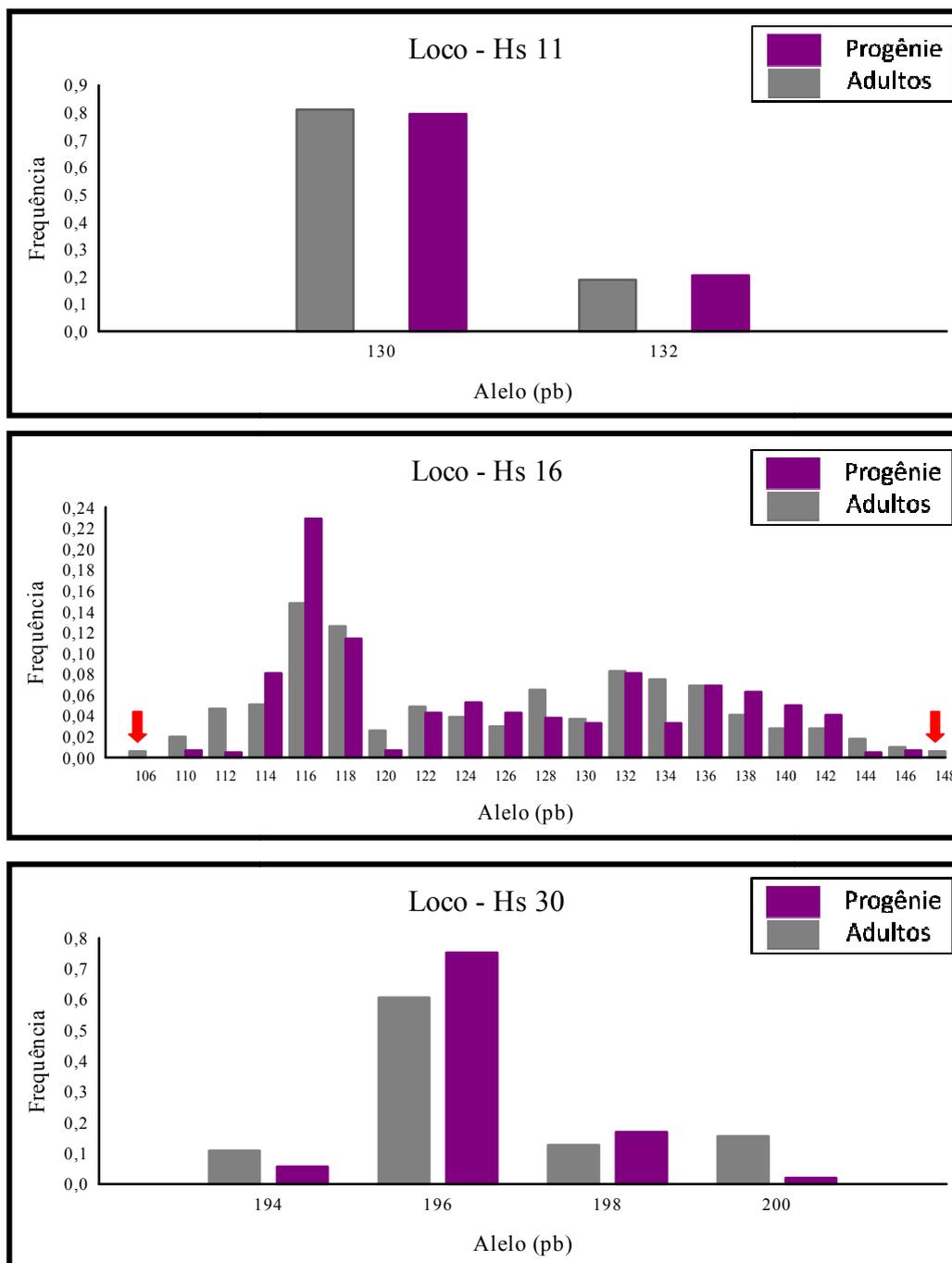


Figura 8. Distribuição das frequências alélicas encontradas para locos microssatélites desenvolvidos para *H. speciosa*. As barras cinza representam os adultos, as barras roxas representam as progênie. As setas vermelhas indicam os alelos que estão presentes apenas nos adultos.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EXISTENTE NAS VARIEDADES BOTÂNICAS

Ao analisar os indivíduos adultos separados por variedade botânica foi possível verificar uma diferença aparente no número médio de alelos em cada variedade, que foi maior para *H. speciosa* var. *gardneri* (15,8) e menor para *H. speciosa* var. *cuyabensis* (10,3) (Tabelas 7 a 10). Essa diferença aparente também foi observada ao analisar os valores de heterozigosidade, *H. speciosa* var. *speciosa* apresentou os menores valores encontrados de *He* e *Ho*, 0,093 e 0,095 (Hs 11), respectivamente (Tabela 10). Os maiores valores médios de *He* e *Ho* foram encontrados para *H. speciosa* var. *gardneri* (Tabela 7) enquanto o menor valor médio de *He* foi encontrado para *H. speciosa* var. *pubescens* (Tabela 8) e de *Ho* para *H. speciosa* var. *cuyabensis* (Tabela 9). Porém ao realizar testes estatísticos, as diferenças tanto no número médio de alelos quanto nos valores de heterozigosidade encontrados nas variedades botânicas não foram significativas ($p > 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 7. Caracterização da variabilidade genética de *H. speciosa* var. *gardneri*. A: número de alelos, *He* e *Ho*: valores de heterozigosidade esperada e observada, respectivamente.

Loco	A	<i>He</i>	<i>Ho</i>
Hs 01	24	0,917	0,739
Hs 05	23	0,921	0,759
Hs 06	19	0,935	0,765
Hs 08	18	0,888	0,727
Hs 11	2	0,373	0,406
Hs 16	21	0,937	0,625
Hs 30	4	0,564	0,319
Média	15,8	0,790	0,620

Tabela 8. Caracterização da variabilidade genética de *H. speciosa* var. *pubescens*. A: número de alelos, *He* e *Ho*: valores de heterozigosidade esperada e observada, respectivamente.

Loco	A	<i>He</i>	<i>Ho</i>
Hs 01	20	0,884	0,759
Hs 05	20	0,883	0,736
Hs 06	19	0,930	0,836
Hs 08	17	0,880	0,815
Hs 11	2	0,211	0,164
Hs 16	28	0,918	0,691
Hs 30	4	0,440	0,218
Média	14,3	0,735	0,602

Tabela 9. Caracterização da variabilidade genética de *H. speciosa* var. *cuyabensis*. A: número de alelos, *He* e *Ho*: valores de heterozigosidade esperada e observada, respectivamente.

Loco	A	<i>He</i>	<i>Ho</i>
Hs 01	13	0,904	0,654
Hs 05	17	0,898	0,792
Hs 06	14	0,856	0,769
Hs 08	10	0,851	0,615
Hs 11	2	0,340	0,346
Hs 16	12	0,843	0,692
Hs 30	4	0,521	0,231
Média	10,3	0,744	0,585

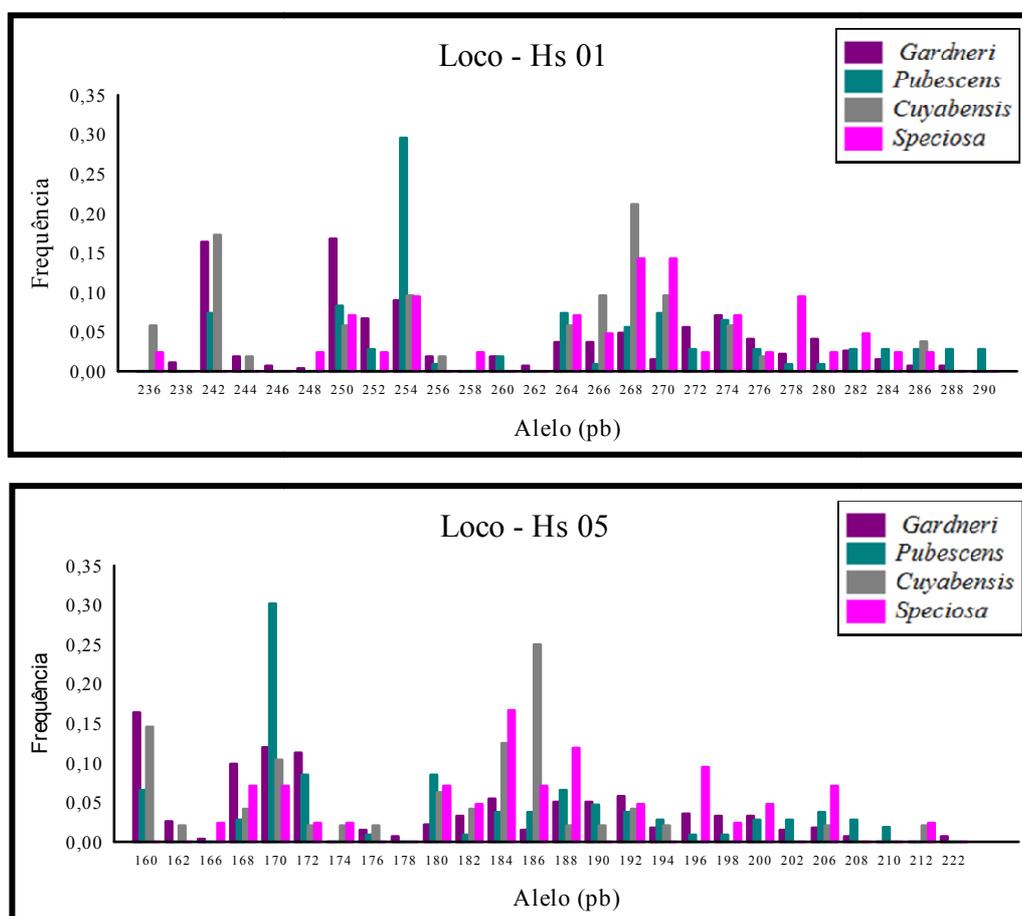
Tabela 10. Caracterização da variabilidade genética de *H. speciosa* var. *speciosa*. A: número de alelos, *He* e *Ho*: valores de heterozigosidade esperada e observada, respectivamente.

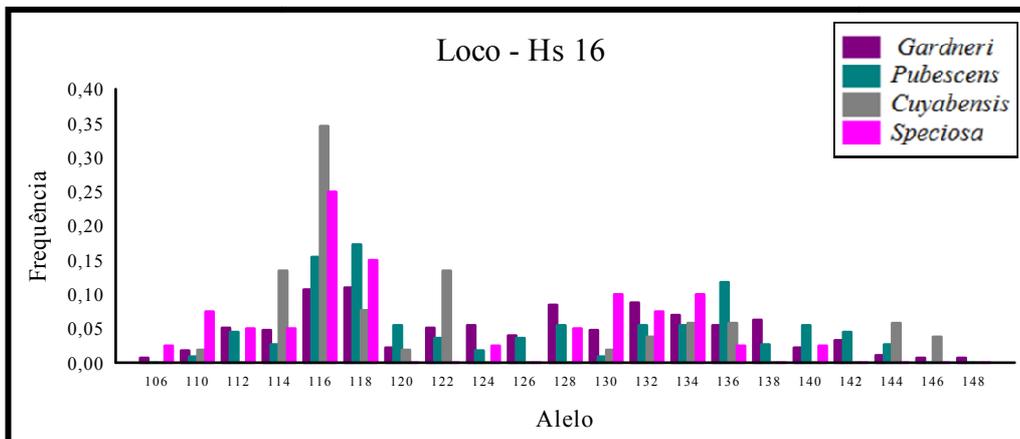
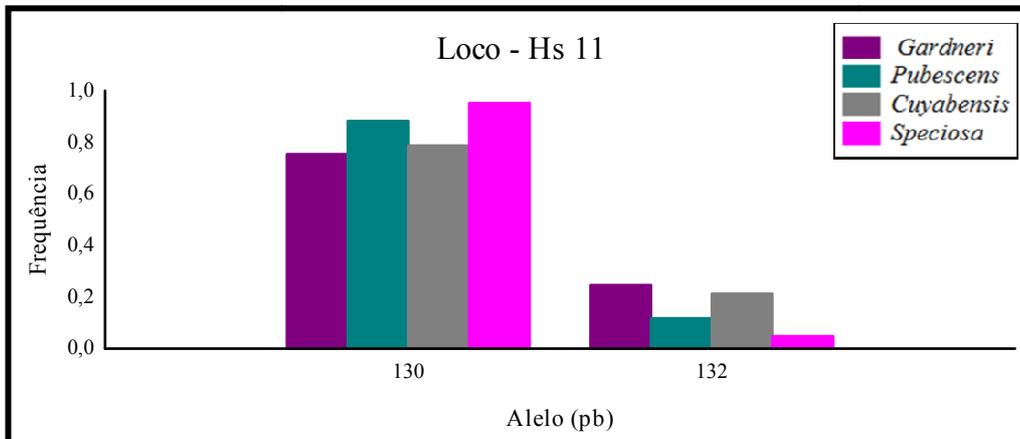
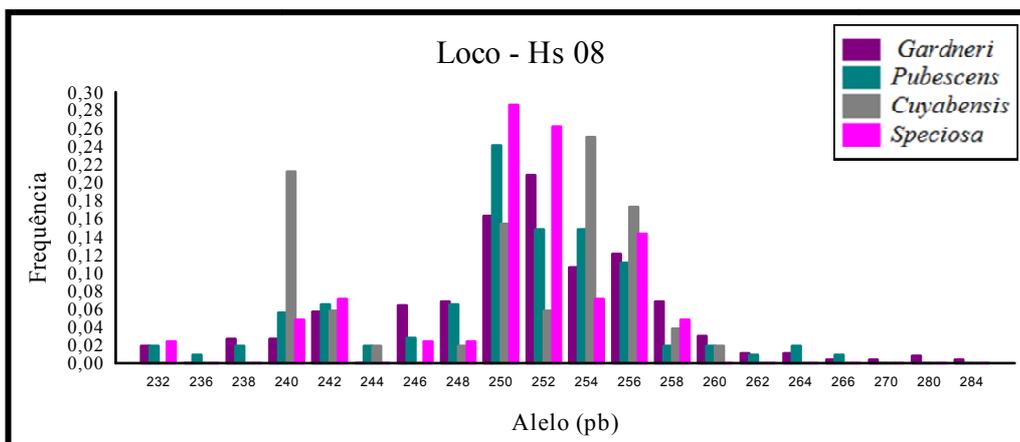
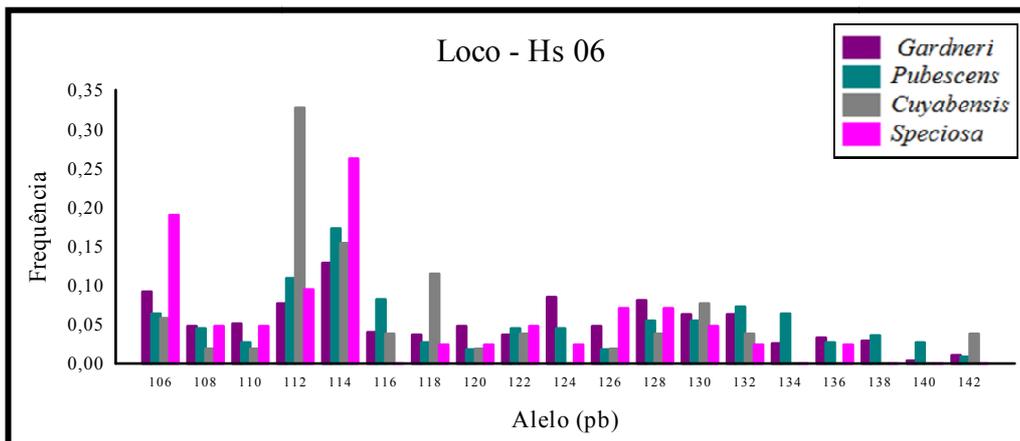
Loco	A	<i>He</i>	<i>Ho</i>
Hs 01	18	0,940	0,857
Hs 05	16	0,937	0,905
Hs 06	14	0,887	0,810
Hs 08	10	0,835	0,762
Hs 11	2	0,093	0,095
Hs 16	13	0,905	0,550
Hs 30	4	0,670	0,300
Média	11	0,752	0,611

Tabela 11. Comparação entre a variabilidade das variedades botânicas de *H. speciosa*. N: número de indivíduos analisados; A: número de alelos; H_o e H_e : valores de heterozigidade observada e esperada, respectivamente; SD: desvio padrão.

Variedade	N	A	H_e (SD)	H_o (SD)
<i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i>		15,8	0,790 (0,227)	0,620 (0,183)
<i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i>		14,3	0,735 (0,288)	0,602 (0,285)
<i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i>		10,3	0,744 (0,222)	0,585 (0,214)
<i>H. speciosa</i> var. <i>speciosa</i>		11,0	0,752 (0,305)	0,611 (0,309)

As frequências alélicas variaram entre as variedades botânicas de *H. speciosa* e alguns alelos foram encontrados apenas em uma das variedades como, por exemplo, para o loco Hs 01 os alelos 238, 246 e 262 foram encontrados apenas para *H. speciosa* var. *gardneri* e o alelo 290 foi encontrado apenas nos indivíduos de *H. speciosa* var. *cuyabensis*. Porém, a maioria dos alelos está presente nas quatro variedades estudadas. (Figura 9).





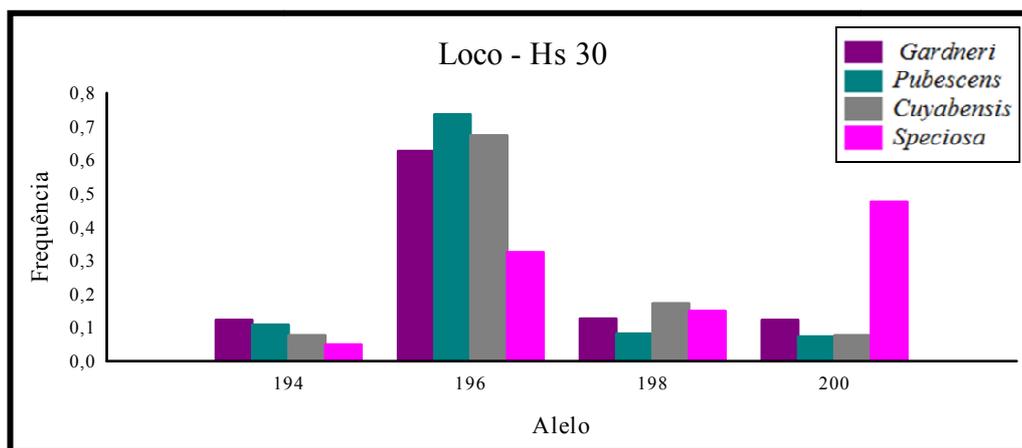


Figura 9. Distribuição das frequências alélicas encontradas nas variedades botânicas para os locos microssatélites analisados em *H. speciosa*. As barras roxas representam *H. speciosa* var. *gardneri*, as verdes *H. speciosa* var. *pubescens*, as cinzas *H. speciosa* var. *cuyabensis* e as rosas *H. speciosa* var. *speciosa*.

5.3 ANÁLISE DO SISTEMA REPRODUTIVO

5.3.1 Frequência alélica do pool de óvulo e do pool de pólen

As frequências alélicas do pool de pólen e do pool de óvulo foram heterogêneas para quase todos os locos com exceção do loco Hs 30 (Tabela 12), o que indica que para esse loco a frequência alélica na progênie representa a frequência alélica da coleção como um todo. A heterogeneidade nas frequências alélicas do pólen indica que os grãos de pólen não foram amostrados aleatoriamente em cada árvore mãe, o que representa uma violação do modelo de cruzamento misto proposto por Ritland (2002).

Diferenças nas frequências alélicas entre pólen e óvulos podem ser causadas por diversos fatores como diferenças nas funções masculina e feminina das árvores, migração de pólen de fora da população, seleção entre o período de polinização e amostragem das progênies. Além disso, reprodução não aleatória dos genótipos como, por exemplo, cruzamentos endogâmicos (biparentais e autofecundações) também podem causar essas diferenças. Ou ainda, o baixo tamanho amostral no número de plantas maternas ou desigual número de plantas acessadas por progênies (Ritland & Jain, 1981; Sebbenn et al.; 2000 e Seoane et al.; 2005). No presente estudo, as hipóteses mais plausíveis são: migração de pólen de fora da coleção, haja vista que existem outros indivíduos da espécie nas proximidades da coleção, em um arboreto na Escola de Agronomia; a floração e frutificação desigual entre e dentro das variedades que ocorreu na

coleção de germoplasma na estação reprodutiva estudada; e ainda o baixo tamanho amostral das matrizes.

Vários estudos com espécies de árvores tropicais têm demonstrado divergências significativas entre nas frequências de pólen e óvulo, tais como: *Caryocar brasiliense* (Collevatti et al., 2001); *Acacia aroma* e *Acacia macracantha* (Casiva et al., 2004); *Senna multijuga* (Ribeiro & Lovato, 2004); *Solanum lycocarpum* (Martins et al., 2006) e *Tabebuia roseoalba* (Feres et al., 2009).

Tabela 12. Frequência alélica no *pool* de pólen e óvulo, por loco. GL: graus de liberdade.

Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	F _{ST}	GL	X ²	Valor de p
Hs 01	252	0,029 (0,016)	0,063 (0,046)	0,00543	23	79,996*	3,17x10 ⁻⁸
	276	0,047 (0,015)	0,042 (0,028)				
	242	0,233 (0,035)	0,167 (0,058)				
	288	0,023 (0,016)	0,021 (0,021)				
	250	0,092 (0,022)	0,125 (0,054)				
	272	0,027 (0,010)	0,042 (0,027)				
	260	0,031 (0,013)	0,063 (0,045)				
	286	0,012 (0,006)	0,000 (0,000)				
	280	0,008 (0,005)	0,000 (0,000)				
	264	0,061 (0,017)	0,083 (0,048)				
	266	0,084 (0,029)	0,083 (0,049)				
	268	0,054 (0,014)	0,000 (0,000)				
	254	0,159 (0,037)	0,146 (0,048)				
	270	0,031 (0,014)	0,021 (0,021)				
	236	0,009 (0,007)	0,042 (0,029)				
	238	0,023 (0,019)	0,000 (0,000)				
	278	0,012 (0,006)	0,000 (0,000)				
	282	0,019 (0,009)	0,021 (0,020)				
	262	0,016 (0,015)	0,000 (0,000)				
	244	0,008 (0,005)	0,000 (0,000)				
256	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)					
274	0,008 (0,006)	0,083 (0,049)					
246	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)					
284	0,008 (0,007)	0,000 (0,000)					
Hs 05	170	0,210 (0,043)	0,295 (0,078)				
	192	0,029 (0,013)	0,045 (0,031)				
	160	0,162 (0,035)	0,182 (0,077)				
	208	0,027 (0,016)	0,000 (0,000)				

Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	F _{ST}	GL	X ²	Valor de p
	168	0,101 (0,024)	0,045 (0,046)				
	172	0,006 (0,004)	0,000 (0,000)				
	176	0,035 (0,014)	0,023 (0,022)				
	206	0,012 (0,006)	0,023 (0,022)				
	196	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)				
	184	0,101 (0,034)	0,091 (0,047)				
	180	0,072 (0,019)	0,068 (0,049)				
	182	0,053 (0,018)	0,045 (0,030)				
	186	0,043 (0,015)	0,023 (0,025)				
	190	0,027 (0,017)	0,091 (0,056)				
	194	0,043 (0,015)	0,000 (0,000)				
	198	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)				
	222	0,008 (0,005)	0,023 (0,022)				
	202	0,016 (0,010)	0,000 (0,000)				
	178	0,004 (0,008)	0,023 (0,023)				
	188	0,019 (0,013)	0,023 (0,022)				
	162	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)				
	200	0,021 (0,021)	0,000 (0,000)	0,00568	22	80,037*	1,59 x10 ⁻⁸
Hs 06	106	0,093 (0,026)	0,146 (0,062)				
	114	0,165 (0,033)	0,250 (0,073)				
	126	0,048 (0,020)	0,021 (0,021)				
	118	0,070 (0,016)	0,000 (0,000)				
	112	0,107 (0,024)	0,188 (0,069)				
	128	0,052 (0,017)	0,042 (0,032)				
	108	0,023 (0,012)	0,042 (0,028)				
	110	0,097 (0,025)	0,083 (0,047)				
	120	0,032 (0,011)	0,021 (0,022)				
	116	0,031 (0,011)	0,000 (0,000)				
	122	0,041 (0,014)	0,042 (0,029)				
	134	0,042 (0,014)	0,104 (0,050)				
	124	0,031 (0,013)	0,021 (0,021)				
	132	0,045 (0,017)	0,021 (0,021)				
	136	0,023 (0,014)	0,000 (0,000)				
	138	0,036 (0,011)	0,021 (0,021)				
	130	0,035 (0,012)	0,000 (0,000)				
	142	0,012 (0,006)	0,000 (0,000)				
	140	0,019 (0,012)	0,000 (0,000)	0,00864	18	99,540*	2,68 x10 ⁻¹³
Hs 08	242	0,053 (0,022)	0,020 (0,020)				
	252	0,198 (0,032)	0,180 (0,064)				

Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	F_{ST}	GL	X²	Valor de p
	248	0,041 (0,010)	0,040 (0,039)				
	240	0,140 (0,035)	0,020 (0,020)				
	284	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)				
	258	0,031 (0,015)	0,000 (0,000)				
	250	0,105 (0,025)	0,280 (0,073)				
	256	0,163 (0,037)	0,200 (0,075)				
	232	0,008 (0,005)	0,000 (0,000)				
	254	0,082 (0,023)	0,080 (0,046)				
	246	0,077 (0,032)	0,100 (0,048)				
	244	0,019 (0,009)	0,000 (0,000)				
	262	0,022 (0,008)	0,020 (0,019)				
	270	0,012 (0,008)	0,020 (0,019)				
	280	0,023 (0,020)	0,000 (0,000)				
	260	0,017 (0,010)	0,000 (0,000)				
	264	0,004 (0,004)	0,040 (0,039)	0,0149	18	172,131*	13,44 x10 ⁻²⁷
Hs 11	130	0,688 (0,029)	0,870 (0,049)				
	132	0,312 (0,029)	0,130 (0,049)	0,0481	1	30,784*	2,88 x10 ⁻⁸
Hs 16	118	0,132 (0,039)	0,152 (0,061)				
	130	0,037 (0,015)	0,022 (0,022)				
	122	0,052 (0,011)	0,022 (0,021)				
	116	0,136 (0,031)	0,283 (0,084)				
	124	0,044 (0,014)	0,087 (0,050)				
	112	0,012 (0,008)	0,000 (0,000)				
	114	0,065 (0,022)	0,087 (0,038)				
	126	0,052 (0,013)	0,022 (0,022)				
	132	0,103 (0,033)	0,022 (0,021)				
	128	0,051 (0,016)	0,022 (0,021)				
	120	0,014 (0,006)	0,000 (0,000)				
	136	0,092 (0,028)	0,065 (0,049)				
	138	0,051 (0,017)	0,065 (0,035)				
	140	0,039 (0,015)	0,043 (0,029)				
	110	0,007 (0,005)	0,022 (0,021)				
	134	0,036 (0,013)	0,065 (0,047)				
	144	0,008 (0,005)	0,000 (0,000)				
	142	0,054 (0,017)	0,022 (0,022)				
	146	0,016 (0,009)	0,000 (0,000)	0,0103	18	119,678*	4,82 x10 ⁻¹⁷

Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	F _{ST}	GL	X ²	Valor de p
Hs 30	196	0,781 (0,045)	0,778 (0,075)				
	200	0,004 (0,004)	0,019 (0,018)				
	194	0,068 (0,024)	0,019 (0,019)				
	198	0,147 (0,039)	0,185 (0,073)	0,00281	3	5,396	0,1449

* valores significativos (p < 0,05).

5.3.2 Taxas de cruzamento e parentesco

A taxa de fecundação cruzada multiloco (t_m) foi igual a um em todas as famílias (1,0) e a uniloco (t_s) foi alta variando de 0,693 a 1,206 o que indica que na coleção não ocorre eventos de autofecundação e isso pode ocorrer pela presença de algum mecanismo de autoincompatibilidade como proposto por Darrault & Schlindwein (2006). Murawski (1995) mostrou que pelo menos 34% das espécies hermafroditas de árvores tropicais possuem algum mecanismo que impossibilita a autofecundação. A estimativa da diferença entre a taxa de fecundação cruzada multiloco e uniloco variou de -0,206 a 0,307 (Tabela 13) mostrando uma alta variação na ocorrência de endogamia biparental entre as famílias. As matrizes que apresentaram maiores taxas de cruzamento entre indivíduos aparentados foram a matriz 22 (30%), matriz 4 (23%) e matriz 17 (20%).

Tabela 13. Análise do sistema reprodutivo de *H. speciosa* por matriz. t_m : taxa de fecundação cruzada multiloco, t_s : taxa de fecundação cruzada uniloco, $t_m - t_s$: taxa de fecundação cruzada entre indivíduos aparentados, SE: desvio padrão.

Família	Sementes Analisadas	t_m	SE	t_s	SE	$t_m - t_s$
Matriz 1	19	1,000	0,001	0,927	0,034	0,073
Matriz 2	19	1,000	0,001	1,033	0,008	-0,033
Matriz 3	19	1,000	0,001	0,810	0,073	0,190
Matriz 4	19	1,000	0,001	0,777	0,059	0,223
Matriz 5	2	1,000	0,001	1,000	0,001	0,000
Matriz 6	15	1,000	0,001	1,083	0,030	-0,083
Matriz 7	14	1,000	0,001	1,073	0,010	-0,073
Matriz 8	16	1,000	0,001	0,994	0,036	0,006
Matriz 9	14	1,000	0,001	1,037	0,021	-0,037
Matriz 10	9	1,000	0,001	0,983	0,030	0,017
Matriz 11	13	1,000	0,001	1,000	0,001	0,000

Família	Sementes Analisadas	t_m	SE	t_s	SE	$t_m - t_s$
Matriz 12	7	1,000	0,001	0,992	0,008	0,008
Matriz 14	13	1,000	0,001	0,959	0,052	0,041
Matriz 15	8	1,000	0,001	1,007	0,025	-0,007
Matriz 16	15	1,000	0,001	0,912	0,073	0,088
Matriz 17	3	1,000	0,001	1,206	0,001	-0,206
Matriz 18	8	1,000	0,001	1,065	0,032	-0,065
Matriz 19	5	1,000	0,001	0,971	0,031	0,029
Matriz 20	15	1,000	0,001	0,972	0,032	0,028
Matriz 21	6	1,000	0,001	0,994	0,047	0,006
Matriz 22	15	1,000	0,001	0,693	0,052	0,307
Matriz 23	8	1,000	0,001	1,069	0,011	-0,069
Matriz 24	14	1,000	0,001	1,036	0,008	-0,036
Matriz 25	18	1,000	0,001	1,000	0,001	0,000
Matriz 26	8	1,000	0,001	0,968	0,028	0,032
Matriz 27	8	1,000	0,001	0,946	0,065	0,054
Matriz 28	10	1,000	0,001	0,894	0,042	0,106

Ao analisar todas as famílias em conjunto, a taxa de fecundação cruzada multiloco (t_m) foi igual a 0,990 e a uniloco (t_s) foi igual a 0,899 (Tabela 14). A alta taxa de fecundação cruzada observada na coleção de germoplasma de *H. speciosa* é esperada tanto pelo fato da espécie ser considerada autoincompatível, quanto pela alta densidade em que os indivíduos ocorrem na coleção (190,3 indivíduos/ha). Murawski & Hamrick (1991) observaram a tendência de espécies com alta densidade apresentarem maiores taxas de cruzamento multiloco em comparação a espécies de baixa densidade. Espécies que ocorrem em alta densidade populacional aparentemente apresentam maior taxa de fecundação cruzada devido à proximidade das árvores o que pode favorecer o movimento dos polinizadores, em casos de espécies polinizadas por animais, como *H. speciosa*.

Tabela 14. Parâmetros do sistema reprodutivo de *H. speciosa*. SD: Desvio padrão.

Parâmetros	Estimativas (SD)
Número total de árvores matrizes (m)	27
Número total de progênies (n)	320
Endogamia nos parentais (F_m)	0,240 (0,051)
Endogamia nas progênies (F_p)	0,086
Taxa de fecundação cruzada multiloco (t_m)	0,990 (0,007)
Taxa de fecundação cruzada uniloco (t_s)	0,899 (0,016)
Taxa de fecundação cruzada entre parentes ($t_m - t_s$)	0,091 (0,016)
Correlação de autofecundação (s)	-0,999 (0,107)
Correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$)	0,076 (0,014)
Correlação uniloco de paternidade ($r_{p(s)}$)	0,100 (0,026)
Coefficiente de coancestria (θ_{xy})	0,118
Divergência genética do pólen cruzado (Φ_{fi})	0,038
Cruzamentos envolvendo árvores aparentadas ($r_{p(s)} - r_{p(m)}$)	0,024 (0,025)
Número médio de doadores de pólen ($N_{ep} = 1/r_{p(m)}$)	13,15
Proporção de irmãos-germanos ($P_{IC} = r_{p(m)} \times t_m$)	0,071
Proporção de meios-irmãos ($P_{MI} = t_m(1-r_{p(m)})$)	0,876

A diferença entre a taxa de fecundação cruzada multiloco e uniloco ($t_m - t_s$) combinada, que é utilizada para quantificar a ocorrência de endogamia bi parental, foi positiva (0,091) e significativamente diferente de zero, indicando a ocorrência de 9,1% de cruzamento entre indivíduos aparentados. Darrault & Schlindwein (2006) relataram que *H. speciosa* é uma espécie autoincompatível, assim como muitas outras espécies de árvores tropicais (Cascante et al., 2002 e Fuchs et al., 2003) e para essas espécies não ocorre endogamia devido a autofecundação e, conseqüentemente toda a endogamia encontrada é devido a acasalamento entre indivíduos aparentados. Na coleção de germoplasma de *H. speciosa* essa baixa taxa de fecundação cruzada entre indivíduos aparentados é compreensível, pois ainda que os indivíduos sejam oriundos de matrizes de 32 populações naturais eles foram plantados no esquema experimental de blocos completos casualizados, com uma única planta por parcela, de forma que plantas irmãs situam-se sempre em blocos diferentes. Isso diminui a probabilidade de ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados, porém não elimina a possibilidade de que tais eventos ocorram. Dessa forma pode-se inferir que os indivíduos da coleção de germoplasma estão se reproduzindo por fecundação cruzada (alogamia) e que há uma pequena taxa endogamia biparental.

A estimativa da correlação de autofecundação, isto é a probabilidade de se encontrar um indivíduo gerado por autofecundação onde foi encontrado outro indivíduo de autofecundação, foi negativa (-0,999) indicando que não houve a formação de sementes oriundas de autofecundação o que corrobora com a hipótese da espécie ser autoincompatível (Tabela 14).

A correlação de paternidade multilocus ($r_{p(m)}$) foi significativamente diferente de zero e igual a 0,076 (Tabela 14). Em *H. speciosa* essa correlação foi muito baixa o que significa que apenas 7,6% das progênies de cada matriz são irmãos completos, ou seja, filhos do mesmo doador de pólen. Esse resultado foi bem diferente do encontrado para outras espécies polinizadas por insetos como: *Bagassa guianensis* ($r_{p(m)} = 0,140$, Silva et al., 2008); *Caryocar brasiliensis* ($r_{p(m)} = 0,160$, Collevatti et al., 2001) e *Cedrela odorata* ($r_{p(m)} = 0,160$, James et al., 1998). Isso mostra que várias árvores da coleção estão florescendo e contribuindo com fluxo gênico, esse resultado indica também que os agentes polinizadores percorrem grande parte da coleção de germoplasma durante o forrageamento, não se limitando a buscar recurso somente nos indivíduos vizinhos.

A autofecundação é o mecanismo que mais produz endogamia em plantas, ela é responsável por gerar um coeficiente de endogamia de pelo menos 0,5 na prole. Outro mecanismo capaz de produzir endogamia é o acasalamento entre indivíduos aparentados (cruzamentos endogâmicos), mas o grau de endogamia criado por este mecanismo depende do coeficiente de coancestria entre os indivíduos. Por exemplo, o cruzamento entre dois meios-irmãos ($\theta_{xy} = 0,125$) irá produzir 12,5% cruzamentos endogâmicos, enquanto que o acasalamento entre dois irmãos completos ($\theta_{xy} = 0,25$) produzirá 25% de cruzamentos endogâmicos. O valor calculado do coeficiente de correlação de parentesco (r_{xy}) foi de 0,237. Desse coeficiente foi estimado o coeficiente de coancestria (θ_{xy}) e para a coleção de germoplasma de *H. speciosa* o θ_{xy} encontrado foi de aproximadamente 0,118 que é um valor próximo ao esperado em progênies de meios-irmãos (0,125). O significado dessa estimativa para o presente estudo é de que existem aproximadamente 11,8% de probabilidade de se amostrar dois alelos idênticos por descendência em diferentes indivíduos da progênie.

O número médio de doadores de pólen na coleção foi de 13,15. Esse número foi maior do que o encontrado para outras espécies tropicais, em ambiente natural, como por exemplo: foi encontrado um valor de 10,2 doadores de pólen em *Solanum lycocarpum* (Martins et al., 2006); 5,9 doadores em *Manilkara huberi* (Azevedo et al., 2007); 7,1 doadores em *Bagassa guianensis* (Silva et al., 2008) e 6,8 doadores em *Myracrodruon urundeuva* (Gaiano et al., 2011). Para *Hymenaea courbaril*, uma espécie que também é autoincompatível, o número de doadores de pólen encontrado foi de 6,3 (Lacerda et al., 2008) esse número também foi menor do que o encontrado para *H. speciosa*. O número alto de doadores de pólen por árvore encontrado pode ser atribuído à forma com que os indivíduos estão distribuídos na coleção e também à alta densidade, pois, isso pode influenciar no comportamento dos agentes polinizadores.

O tamanho efetivo de variância de cada progênie ($\hat{N}_{e(v)}$) calculado foi igual a 3,69. Este valor está bem próximo de quatro, que é o valor teórico máximo esperado em progênies de meios irmãos em uma população referencial ideal (uma população de tamanho infinito praticando cruzamentos aleatórios na ausência de seleção, mutação, deriva genética e migração) (Vencovsky & Crossa, 2003). Isso indica que a progênie representa a diversidade genética presente na coleção e esse alto valor obtido está de acordo com o fato de que a progênie é composta principalmente por meios irmãos (87,6%).

A estimativa do tamanho efetivo de variância é bastante importante quando se pensa em manejo de uma coleção de germoplasma para a conservação genética *ex situ*, início de um programa de melhoramento e coleta de sementes para a recuperação ambiental (Sebbenn et al., 2000; Barreira et al., 2006). Para se ter um tamanho efetivo igual a 100, que permita a manutenção da diversidade genética por determinado período de tempo ou por vários ciclos de seleção recorrente na coleção de germoplasma estudada de *H. speciosa* seria necessário coletar muitas sementes de pelo menos 27 árvores da coleção.

O valor de ϕ_{fi} , que indica a diferenciação do pool de pólen recebido por cada árvore matriz, encontrado na coleção de *H. speciosa* (0,038) foi baixo e menor do que o relatado por outros autores em estudos com espécie polinizadas por animais como *Dizinia excelsi*, (Dick et al., 2003) e *Symphonia globulifera* (Degen et al., 2004). Esse valor indica que as árvores matrizes estão recebendo uma chuva de pólen similar, ou seja os agentes polinizadores distribuem o pólen de forma eficiente na coleção.

5.4 ANÁLISE DE FLUXO GÊNICO CONTEMPORÂNEO

Ao fazer a análise de paternidade, mesmo assumindo que a espécie poderia apresentar eventos de autofecundação, não foi possível encontrar eventos desse tipo. Isso sugere que essa espécie, embora tenha flores hermafroditas, seja dependente de agentes polinizadores devido à presença de algum sistema de autoincompatibilidade, conforme demonstrado por Darrault & Schlindwein (2006) e pelo estudo do sistema reprodutivo feito neste trabalho. Para a análise de paternidade foi considerado o nível de confiança estrito de 95% com Δ crítico igual a 3,88 e relaxado de 90% com Δ crítico igual 2,32.

Das 27 matrizes em que houve germinação de sementes foi possível analisar um total de 298 sementes e dessas foi atribuída a paternidade para 229 (76,84%). A não atribuição de paternidade para as demais sementes (69) pode ser devido a falhas de genotipagem, falhas na bateria de locos ou ainda migração de pólen de fora da coleção de germoplasma. Como os genótipos foram revistos várias vezes e a bateria de locos apresenta excelentes valores de probabilidade de exclusão de paternidade e de probabilidade de identidade, a ocorrência de fluxo gênico externo é a hipótese mais plausível, uma vez que a coleção não está isolada e há presença de outros indivíduos da espécie nas proximidades.

Houve cruzamento entre todas as variedades botânicas presentes na coleção, porém *H. speciosa* var. *speciosa* foi a que menos contribuiu com a polinização das sementes analisadas. *Hancornia speciosa* var. *gardneri* foi a variedade que mais contribuiu com o fluxo de pólen sendo responsável por 56% dos eventos de polinização (Tabela 15). A ocorrência de polinização cruzada entre as variedades botânicas simpátricas (*Hancornia speciosa* var. *gardneri* e *Hancornia speciosa* var. *pubescens*) sugere que não há restrição de fluxo gênico entre essas variedades e provavelmente as diferenças entre elas são apenas morfológicas, assim como o relatado por Chaves (2006), para as populações das outras variedades botânicas a restrição ao fluxo gênico deve ocorrer devido ao isolamento por distância.

Essa grande diferença na contribuição com a chuva de pólen recebida pelas árvores matrizes parece estar relacionada tanto com a floração desigual entre as variedades, quanto pela representatividade de cada variedade botânica na coleção. *Hancornia speciosa* var. *speciosa* quase não floresce na coleção e isso pode estar relacionado com a diferença

de clima entre a região de origem dessa variedade e a coleção de germoplasma. Além disso, as variedades apresentam diferente representatividade na coleção, em número de indivíduos e em localidade de origem desses indivíduos. *Hancornia speciosa* var. *gardneri*, por exemplo, é a variedade mais bem representada na coleção de germoplasma da EA/UFG, sendo responsável por 148 dos 274 indivíduos presentes na coleção (54%) que foram coletados em 19 populações de Goiás, Tocantins, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Tabela 15. Atribuição de paternidade, demonstrando que diferentes variedades contribuíram com a polinização das matrizes. G: *H. speciosa* var. *gardneri*, P: *H. speciosa* var. *pubescens*, C: *H. speciosa* var. *cuyabensis*, S: *H. speciosa* var. *speciosa*.

Matriz – Variedade	Nº de sementes analisadas	Nº de atribuições de paternidade	Porcentagem de atribuição (%)	Nº de doadores de pólen	Nº de doadores por variedade
1 – G	19	15	78,9	10	5 - G 1 - P 4 - C
2 – C	19	12	63,2	12	5 - G 5 - P 1 - C 1 - S
3 – G	19	16	84,2	12	9 - G 3 - P
4 – C	19	13	68,4	9	6 - G 1 - P 1 - C 1 - S
5 – G	2	2	100	2	2 - P
6 – G	15	13	86,7	10	5 - G 2 - P 2 - C 1 - S
7 – P	14	14	100	11	7 - G 3 - P 1 - C
8 – P	16	9	56,2	6	6 - G
9 – P	14	7	50	6	5 - G 1 - C

Matriz – Variedade	Nº de sementes analizadas	Nº de atribuições de paternidade	Porcentagem de atribuição (%)	Nº de doadores de pólen	Nº de doadores por variedade
10 – C	9	7	77,8	6	3 – G 1 – P 2 – C 6 – G
11 – G	13	9	69,2	9	1 – P 1 – C
12 – P	7	4	57,1	3	2 – G 1 – S
14 – G	13	10	76,9	9	5 – G 4 – P
15 – P	8	3	37,5	3	1 – G 2 – P
16 – G	15	12	80	12	6 – G 2 – P 3 – C 1 – S
17 – G	3	1	33,3	1	1 – P
18 – C	8	6	75	6	4 – G 2 – P
19 – G	5	4	80	4	2 – G 1 – P 1 – G
20 – G	15	9	60	8	4 – G 3 – P 1 – C
21 – P	6	3	50	3	1 – P 1 – C 1 – S
22 – C	15	11	73,3	9	7 – G 1 – P 1 – C 2 – G
23 – G	8	6	75	5	1 – P 1 – C 1 – S
24 – G	14	10	71,4	9	3 – G 2 – P 2 – C 1 – S

Matriz – Variedade	Nº de sementes analisadas	Nº de atribuições de paternidade	Porcentagem de atribuição (%)	Nº de doadores de pólen	Nº de doadores por variedade
25 – C	18	15	83,3	14	8 – G 4 – P 2 – C
26 – P	8	5	62,5	4	2 – G 1 – P 1 – S
27 – G	8	4	50	4	1 – G 3 – P
28 – G	10	9	90	9	4 – G 4 – P 1 – C

Um total de 121 indivíduos adultos contribuiu para o fluxo gênico na coleção, na estação reprodutiva estudada, e o número de doadores de pólen por matriz variou de 1 a 14, com um número médio efetivo de aproximadamente 13 doadores de pólen por matriz (Tabela 16). Aproximadamente 89% das atribuições de paternidade foram feitas com o nível de confiança estrito (95%) e o restante (11%) com o nível relaxado de 90%.

Tabela 16. Resultado do teste de paternidade realizado na progênie de *H. speciosa*.

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M1	M1F1	A239	704	126	+	60,29
M1	M1F2	A23	180	275	+	7,8
M1	M1F6	A112	831	569	*	88,3
M1	M1F8	A100	739	631	*	34,65
M1	M1F9	A93	559	887	*	127,28
M1	M1F10	A228	101	704	*	118,07
M1	M1F11	A93	599	599	*	127,28
M1	M1F12	A100	740	643	*	34,65
M1	M1F13	A66	135	662	*	110,65
M1	M1F15	A93	599	494	*	127,28
M1	M1F16	A108	870	870	*	69,28

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M1	M1F17	A93	582	476	*	127,28
M1	M1F18	M18	116	823	*	15
M1	M1F19	A148	556	125	*	37,36
M1	M1F20	A112	832	569	*	88,3
M2	M2F3	A266	329	329	*	74
M2	M2F4	A70	819	171	*	125,57
M2	M2F6	M9	167	167	+	100
M2	M2F7	A244	209	699	*	95,19
M2	M2F8	A53	176	176	*	27,73
M2	M2F9	M8	390	390	*	96,69
M2	M2F10	A46	357	111	*	15,62
M2	M2F11	M5	711	691	*	94,86
M2	M2F12	A66	747	531	*	105,68
M2	M2F15	A40	265	265	*	105,17
M2	M2F17	A37	656	743	*	90,19
M2	M2F20	M18	358	107	*	10
M3	M3F1	A274	192	138	*	100,24
M3	M3F2	A144	121	118	*	94,86
M3	M3F3	A136	333	333	*	46,09
M3	M3F4	A103	825	540	+	13
M3	M3F5	A189	561	561	*	57,63
M3	M3F6	A100	300	300	*	23,32
M3	M3F8	A183	372	339	+	50
M3	M3F9	M23	383	383	*	5
M3	M3F10	A36	939	139	*	50,35
M3	M3F11	A81	102	693	*	16,15
M3	M3F12	A189	550	205	*	57,63

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M3	M3F13	A82	126	122	*	20,88
M3	M3F14	A183	394	577	*	50
M3	M3F16	A144	604	997	*	91,78
M3	M3F18	A273	294	294	*	96,06
M3	M3F19	A189	504	504	*	57,63
M4	M4F1	A137	627	256	+	16,15
M4	M4F6	A198	297	297	*	24,51
M4	M4F8	A64	228	205	+	58,30
M4	M4F9	M7	175	175	*	42,43
M4	M4F10	A138	165	152	+	30,59
M4	M4F11	A64	478	478	*	46,57
M4	M4F12	A138	385	697	*	30,59
M4	M4F13	A64	475	475	*	46,57
M4	M4F14	M1	371	939	+	60
M4	M4F16	M1	238	150	*	60
M4	M4F17	A223	231	231	*	31,62
M4	M4F19	M20	131	118	*	61,18
M4	M4F20	M27	189	165	*	34,65
M5	M5F1	A50	312	976	*	86,88
M5	M5F2	A262	447	268	*	144,08
M6	M6F1	A141	277	277	+	5
M6	M6F2	A192	225	228	+	91,78
M6	M6F3	A141	772	772	*	5
M6	M6F5	M18	834	620	+	94,87
M6	M6F7	A234	106	389	*	142,47

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M6	M6F8	A221	287	101	*	55,46
M6	M6F10	A141	141	141	*	5
M6	M6F11	M12	498	498	*	42,43
M6	M6F12	M5	437	691	*	10
M6	M6F13	A141	561	561	*	5
M6	M6F16	A230	115	771	*	165,6
M6	M6F17	A21	908	244	*	30,4
M6	M6F20	M5	539	691	*	10
M7	M7F3	A46	360	682	*	27,73
M7	M7F4	M23	192	412	*	19,2
M7	M7F7	A189	187	149	*	54,12
M7	M7F8	A23	377	377	*	19,2
M7	M7F9	M8	284	108	*	86,88
M7	M7F9	M8	284	108	*	86,88
M7	M7F10	M6	164	569	*	90,13
M7	M7F11	A133	839	839	*	46,09
M7	M7F12	A199	677	609	*	59,4
M7	M7F14	M5	755	689	*	80,77
M7	M7F15	A129	854	490	*	33,54
M7	M7F17	A247	944	698	*	82,88
M7	M7F18	M5	375	505	*	80,77
M7	M7F19	A133	314	313	*	46,09
M7	M7F20	M5	223	689	*	80,77
M8	M8F2	A198	252	252	*	58,3
M8	M8F3	M5	348	481	+	13

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M8	M8F7	A87	874	874	*	5
M8	M8F11	A212	336	206	*	101,59
M8	M8F13	A110	581	254	*	30,59
M8	M8F16	M5	885	691	*	13
M8	M8F18	A35	409	107	*	19,2
M8	M8F19	A110	615	568	*	30,59
M8	M8F20	A87	768	735	*	5
M9	M9F1	A150	451	451	*	92,3
M9	M9F2	A173	243	744	+	90,35
M9	M9F4	A19	540	445	*	5
M9	M9F5	M5	886	691	*	31,62
M9	M9F7	A210	163	926	*	122,54
M9	M9F14	A210	685	929	*	122,54
M9	M9F20	A225	596	596	*	57,58
M10	M10F1	M5	101	692	*	30
M10	M10F2	A21	104	597	*	10
M10	M10F4	M25	253	266	+	106,43
M10	M10F5	M5	371	692	*	30
M10	M10F8	A188	399	210	*	44,59
M10	M10F10	A274	763	137	*	151,67
M10	M10F13	A19	524	445	*	5
M11	M11F1	M10	567	487	*	20,88
M11	M11F2	A19	273	106	*	25,71
M11	M11F4	A229	441	441	*	57,08
M11	M11F6	M12	487	177	*	5

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M11	M11F7	A272	685	685	*	123,19
M11	M11F	A96	945	576	*	82
M11	M11F11	A60	208	706	*	5
M11	M11F12	M5	210	442	*	31,24
M11	M11F17	A224	896	389	*	45,37
M12	M12F1	A60	629	137	*	7,81
M12	M12F5	A143	204	134	*	55,46
M12	M12F12	A60	834	697	*	7,81
M12	M12F13	M24	567	546	*	41,76
M14	M14F1	A202	613	120	*	46,19
M14	M14F5	A66	342	681	*	51,42
M14	M14F6	A213	703	703	*	73,59
M14	M14F9	M12	108	430	*	11,66
M14	M14F10	A237	795	572	*	82
M14	M14F12	A103	102	102	*	34,65
M14	M14F13	A224	974	558	*	57,58
M14	M14F14	A26	743	743	*	40,44
M14	M14F15	M15	122	122	*	20
M14	M14F17	A237	554	413	*	82
M15	M15F8	A136	925	925	*	46,09
M15	M15F11	A70	468	153	*	90,79
M15	M15F15	M26	703	341	+	45,37
M16	M16F1	M9	981	138	*	75
M16	M16F3	A121	267	267	+	46,09
M16	M16F5	A66	100	641	*	80,89

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M16	M16F6	A153	740	692	*	36,34
M16	M16F7	A141	286	286	*	85,44
M16	M16F8	A27	194	562	*	7,8
M16	M16F10	A40	494	494	*	80,22
M16	M16F11	A70	343	318	*	100,71
M16	M16F12	M25	298	690	*	54,16
M16	M16F14	A22	119	119	*	30,59
M16	M16F16	A210	552	290	*	64,35
M16	M16F17	A26	543	543	*	11,66
M17	M17F17	M12	242	170	*	39,35
M18	M18F1	A266	419	419	*	63,06
M18	M18F6	M1	492	492	*	15
M18	M18F7	A262	434	284	*	74,67
M18	M18F14	M16	892	691	*	15
M18	M18F16	A61	434	107	+	71,02
M18	M18F18	A1	407	407	*	15
M19	M19F1	M3	108	106	*	27,73
M19	M19F5	A211	862	701	*	84,5
M19	M19F9	A246	842	833	*	120,97
M19	M19F10	M18	455	455	*	50
M20	M20F1	A242	908	908	*	148,66
M20	M20F2	A151	131	131	*	93,14
M20	M20F4	A265	855	841	*	145,08
M20	M20F5	A66	632	632	*	5
M20	M20F10	A60	527	140	*	40

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M20	M20F14	A66	169	894	*	5
M20	M20F16	A184	216	216	*	59,05
M20	M20F18	A44	114	114	*	16,15
M20	M20F20	M21	295	295	*	50,35
M21	M21F10	A149	297	888	*	58,31
M21	M21F13	A108	326	882	*	18,68
M21	M21F17	M12	395	395	*	5
M22	M22F1	A25	121	691	*	45,39
M22	M22F2	M19	413	413	*	13
M22	M22F3	A81	109	664	*	7,8
M22	M22F6	A81	109	664	*	7,8
M22	M22F7	M19	342	118	*	13
M22	M22F9	A247	201	690	*	116,29
M22	M22F10	A217	136	131	*	51,61
M22	M22F12	A36	446	246	*	30,59
M22	M22F14	A212	186	498	*	69,2
M22	M22F15	M3	138	705	*	20
M22	M22F16	A112	173	173	*	27,73
M23	M23F2	M3	857	531	*	5
M23	M23F3	A253	227	227	+	64,03
M23	M23F4	A133	687	672	*	26,9
M23	M23F9	A214	722	722	*	46,52
M23	M23F10	A256	570	191	*	74,57
M23	M23F12	M3	492	492	*	5
M24	M24F1	A66	557	682	*	80,22

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M24	M24F2	A100	368	368	*	11,66
M24	M24F3	A47	712	182	*	30,54
M24	M24F5	A78	115	622	*	5
M24	M24F10	A113	916	449	*	60,3
M24	M24F12	A23	147	121	*	27,73
M24	M24F13	A100	435	215	*	11,66
M24	M24F17	A97	222	222	*	30,59
M24	M24F19	A136	582	582	*	46,57
M24	M24F20	M23	442	442	*	7,8
M25	M25F1	A186	198	198	+	100,18
M25	M25F2	A70	887	398	*	134,9
M25	M25F5	A23	234	154	*	42,29
M25	M25F7	A200	770	674	*	60
M25	M25F8	M14	978	978	*	75,06
M25	M25F9	A225	565	565	*	85,21
M25	M25F10	A84	661	341	+	76,15
M25	M25F11	A207	901	620	*	95
M25	M25F12	A230	666	119	*	82,63
M25	M25F14	A253	474	201	*	61,81
M25	M25F15	M26	284	724	+	35
M25	M25F16	A212	853	138	*	7,8
M25	M25F17	A240	632	484	*	67
M25	M25F18	A211	632	165	*	5
M25	M25F20	A212	806	137	*	7,8
M26	M26F11	A270	107	839	*	57,87

Matriz	Semente	Doador de Pólen	Trio LOD score	Trio Delta	Trio confidence	Distância de dispersão de pólen (m)
M26	M26F18	A48	218	218	*	58
M26	M26F19	A240	558	543	*	82,24
M26	M26F20	A35	498	475	*	65,29
M27	M27F1	A85	109	609	*	30,41
M27	M27F3	A238	200	186	+	94,81
M27	M27F7	A215	317	317	*	60,29
M27	M27F8	A210	120	120	+	85,21
M28	M28F4	A64	430	430	*	42,43
M28	M28F8	A185	193	373	*	30,59
M28	M28F9	M20	992	408	*	55,46
M28	M28F10	M15	839	596	*	43,83
M28	M28F12	A203	334	995	*	15,62
M28	M28F13	A198	135	135	*	19,2
M28	M28F15	A206	968	968	*	27,73
M28	M28F16	A66	238	238	*	51

* Paternidade determinada em $P < 0,01$, $\delta = 3,88$ (nível de confiança de 95%)

+ Paternidade determinada em $P < 0,05$, $\delta = 2,32$ (nível de confiança de 90%)

As distâncias de dispersão de pólen variaram muito, a menor distância encontrada foi de 5 metros, entre indivíduos vizinhos, e a maior foi de 165,6 metros. Considerando as atribuições de paternidade realizadas com o nível de confiança de 90%, a média das distâncias de dispersão foi igual a 58,97 m (± 27 m). Ao considerar as atribuições com o nível de confiança de 95% a média das distâncias de dispersão foi igual a 53 m, próxima a encontrada quando considerando todas as atribuições juntas (53,52 m ± 93 m) (Figura 10). Embora o alcance da dispersão de pólen tenha sido superior a 160 metros, a maior parte dos eventos de polinização (64%) ocorreu a menos de 60 metros de distância e apenas 11% ocorreram a distâncias maiores que 100 metros. Esse resultado pode ter sido influenciado pela distribuição agregada e pela alta densidade de indivíduos na coleção de *H. speciosa*. De acordo com a teoria de forrageamento ótimo (Macarthur &

Pianka, 1966), quando a população é grande, a distância de vôo do polinizador entre indivíduos será dependente da densidade, isto é, quanto maior a distância entre os indivíduos maior será a distância média de vôo do polinizador.

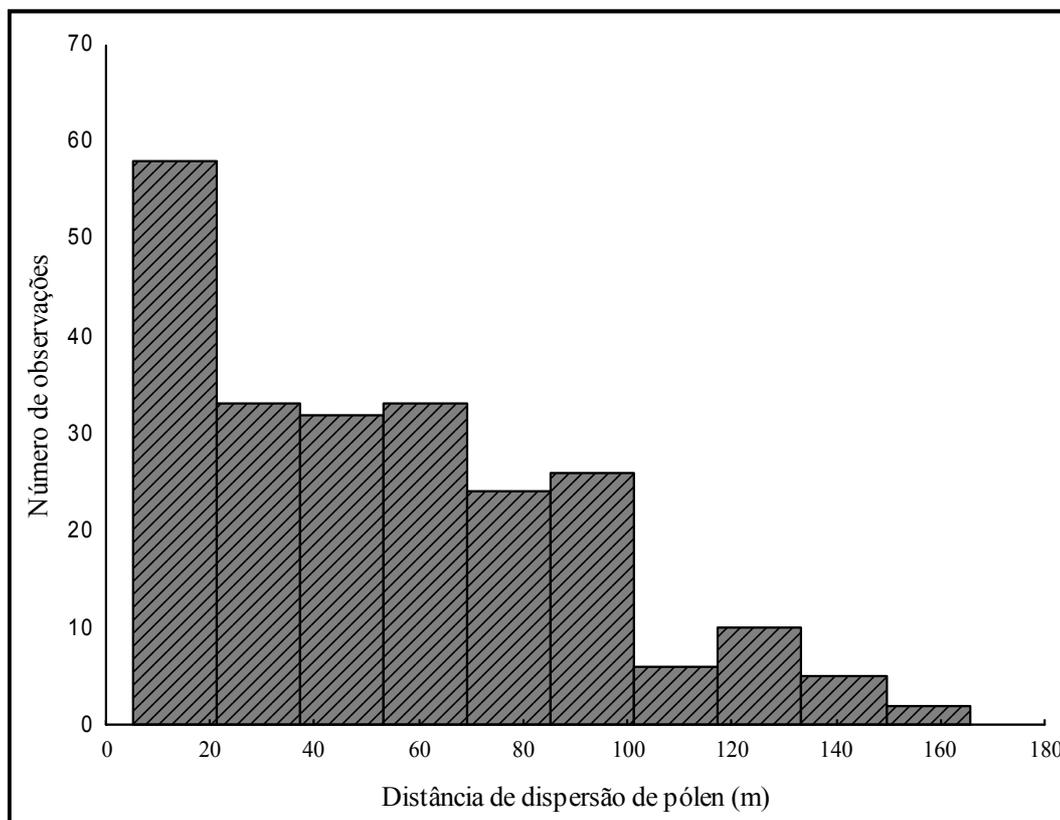


Figura 10. Distribuição de frequência das distâncias de dispersão de pólen na coleção de germoplasma de *H. speciosa*, para todas as atribuições de paternidade.

A área efetiva média de vizinhança de polinização (\hat{A}_{ep}) calculada, considerando todas as atribuições, foi relativamente grande (considerando o tamanho da coleção) e igual a 8.702 m² (0,870 ha). A partir da área efetiva de polinização foi calculado o raio efetivo de fluxo de pólen das matrizes (\hat{r}_{ep}) que foi igual a 52,64 m, este valor encontrado é semelhante a distância média de polinização observada no presente estudo.

Rodrigues (2012), ao estudar os eventos de polinização em uma coleção de germoplasma de *Eugenia dysenterica*, observou maiores distâncias de dispersão de pólen do que as encontradas para *H. speciosa*, que variou entre 0 (em eventos de autofecundação) e 240 m, com média igual a 64,26 m. Do mesmo modo, a área efetiva média de vizinhança

de polinização foi maior em *E. dysenterica* (aproximadamente 2 ha) do que em *H. speciosa*. Tarazi (2009) em estudo com uma população de *Copaifera langsdorffii* observou distâncias de dispersão de pólen ainda maiores, essas distâncias variaram entre 0 e 297 metros com média de 74 metros e a área efetiva de polinização foi igual a 5,3 ha, muito superior a encontrada em *H. speciosa*.

De acordo com resultados obtidos foi possível identificar a ocorrência de imigração de pólen externo à coleção. A ocorrência de imigração sugere então que a distância de polinização da espécie seja maior do que a relatada no presente trabalho. Esse dado é bastante preocupante quando se fala em coleções de germoplasma, pois de acordo com Nass (2001) e Scariot & Sevilha (2007) uma característica fundamental das coleções *in vivo* de germoplasma é que estas devem permanecer isoladas de outras populações, evitando contaminação por fluxo gênico.

6 CONCLUSÕES

1. Há uma grande diversidade genética conservada na coleção de germoplasma de *H. speciosa* mantida pela Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.
2. Não houve diferenças significativas na diversidade genética entre as variedades botânicas de *H. speciosa*.
3. A espécie é alógama, não apresenta eventos de autofecundação o que é compatível com o sistema de autoincompatibilidade descrito para *H. speciosa*.
4. A área efetiva de polinização foi igual a 0,87 ha.
5. Os eventos de polinização a curta distância ocorreram com maior frequência e a distância média de polinização foi de aproximadamente 52 metros. Isso ocorre devido ao padrão de distribuição dos indivíduos de *H. speciosa* na coleção de germoplasma.
6. Houve imigração de pólen externo para a coleção de germoplasma.
7. Não há restrição ao fluxo gênico entre as variedades de *H. speciosa*, houve cruzamento entre todas as variedades presentes na coleção.

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, W.T.; HIPKINS, V.W.; BURCZICK, J.; RANDALL, W.K. Pollen contamination trends in a maturing Douglas-fir seed orchard. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.27, p.131-134, 1997.

AGUIAR FILHO, S. P. de.; BOSCO, J.; SOARES, K. T. Características físicas de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15, 1998, Poços de Caldas, **Resumos**. 1998. p. 315.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. v. 1, p. 464.

AMOS, W. & J. HARWOOD. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society London** v. 353, p. 177-186, 1998.

ANDERSEN O.; ANDERSEN, V. U. Mangaba. In: ANDERSEN O.; ANDERSEN, V. U. **As frutas silvestres brasileiras**. Rio de Janeiro: Globo, 1988. p.147-150.

AZEVEDO, V. C. R., KANASHIRO, M.; CIAMPI, A. Y.; GRATTAPAGLIA, D. Genetic Structure and Mating System of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a Heavily Logged Amazonian Timber Species. **Journal of Heredity**: v. 98, n. 7, p. 646–654, 2007.

AUGSPURGER, C. K. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six Neotropical shrubs. **Biotropica**, Lawrence, v. 15, p. 257-267, 1983.

BARLUENGA, M.; AUSTERLITZ, F.; ELZINGA, J. A.; TEIXEIRA, S.; GOUDET, J.; BERNASCONI, G. Fine-scale spatial genetic structure and gene dispersal in *Silene latifolia*. **Heredity**, p. 1-12, 2010.

BARRET, S. C. H. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. **Philosophical Transaction of the Royal Society of London**, London, c. 358, p. 991-1004, 2003.

BAWA, K. S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. **Evolution**, v. 28, p. 85-92, 1974.

BAWA, K.S. Evolution of dioecy in flowering plants. **Annual Review of ecology and Systematics**. v. 11, p. 15-39, 1980.

BAWA, K. S. Patterns of flowering in tropical plants. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Scientific and Academic Editions, 1983. P. 394-410.

BERG, E. E., J. L. HAMRICK. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Can. J. Forest Researches*, v. 27., p. 415-424, 1997.

BITTENCOURT, J. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. *Heredity*, v. 99, p. 580-591, 2007.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005, 525 p.

BOSHIER, D. H.; CHASE, M. R.; BAWA, K. S. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 3. Gene flow, neighborhood, and population substructure. *American journal of botany*, p. 484-490, 1995.

BOSHIER, D. H. Mating systems. In YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Eds.). **Forest Conservation Genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO publishing, 2000. cap 5. P. 63-79.

BRAGA, A. C.; REIS, A. M. M.; LEOI, L. T.; 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.

BROWN, A. H. D. Genetic characterization of plant mating systems. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (Ed.). **Plant populations genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. 145-162 p.

BUI TEVELD, J.; BAKKER, E.G.; BOVENSCHEN, J.; VRIES, S.M.G. Paternity analysis in a seed orchard of *Quercus rubur* L. and estimation of the amount of background pollination using microsatellite markers. *Forest Genetics*, Svolen, v.8, p.331-337, 2001.

BURCZYK, J.; LEWANDOWSKI, A.; CHALUPKA, W. Local pollen dispersal and distance gene flow in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.). **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.197, p.39-48, 2004.

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**, v. 258, 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**, v. 16, p. 137–147. 2002.

CASIVA, P. V.; VILARDI, J. C.; CIALDELLA, A. M.; SAIDMAN, B. O. Mating system and population structure of *Acacia aroma* and *A. macracantha* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v. 91, n. 1, p. 58-64, 2004.

CLEGG, M. T. Measuring plant mating systems. **Bioscience**, p. 814-818, 1980.

- CHAVES, L. J. Recursos genéticos no Cerrado. In: Silva-Junior, J. F. & Ledo, A. S. (Ed.). **A cultura da Mangaba**. 1 ed. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, v. 1, cap. 5, p. 75-84, 2006.
- CHAVES, L.J.; MOURA, N.F. Recursos genéticos da mangabeira no Bioma Cerrados. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju, SE. **Anais do congresso**.
- CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990, 293p
- COATES, D. J. SAMPSON, J. F. YATES, C. J. Plant mating systems and assessing population persistence in fragmented landscapes. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 55, p. 239-249, 2007.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, p. 72-84, 1969.
- COELHO, A. S. G. & VALVA, F. D. O processo evolutivo e o melhoramento de plantas. In: Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S.; Valadares-Inlis, M. C. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 58-78, 2001.
- COLLEVATTI, R. G.; BRONDANI, R. V.; GRATTAPAGLIA, D. Development and characterization of microsatellite markers for genetic analysis of a Brazilian endangered tree species *Caryocar brasiliense*. **Heredity**, v. 83, n. 6, p. 748-756, 1999.
- COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. **Molecular Ecology**, v. 10, n. 2, p. 349-356, 2001.
- COLLEVATTI, R. G.; ESTOLANO, R.; GARCIA, S. F.; HAY, J. D. Short-distance pollen dispersal and high self-pollination in a bat-pollinated neotropical tree. **Tree Genetics & Genomes**, v. 6, p. 555-564, 2010.
- CONTI, J.H; MINAMI, K.; TAVARES, F. C. A. Comparação de caracteres morfológicos e agrônômicos com moleculares em morangueiros cultivados no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v..20, n.3, p.419-423, set. 2002.
- COSTA, S. S. **Caracterização genética de populações naturais de cajuzinho do Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.)**. 2004. 70f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.
- CRAWFORD, M.; JESSON, L. K.; GARNOCK-JONES, P.J. Correlated evolution of sexual system and life-history traits in mosses. **Evolution**, Lancaster, v. 63, n. 5, p. 1129-1142, 2009.
- CROWHURST, R. S.; FARRIS, K. M.; COLLANTES, J.; BRIGGLER, J. T.; KOPPELMAN, J. B.; EGGERT, L. S. Genetic relationships of hellbenders in the Ozark

- highlands of Missouri and conservation implications for the Ozark subspecies (*Cryptobranchus alleganiensis bishopi*). **Conservation Genetics**, 12:637–646, 2011.
- DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited Fruit Production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and Pollination by Nocturnal and Diurnal Insects. **Biotropica**, v. 37, n.3, p. 381–388, 2005.
- DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Ed.). **A cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 43-56.
- DAVID, P.; PUJOL, B.; VIARD, F.; CASTELLAS, V. GOUDET, J. Reliable selfing rate estimates from imperfect population dat. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 16, p. 2474-2487, 2007.
- DEGEN, B.; BANDO, E.; CARON, H. Limited pollen dispersal and biparental inbreeding in *Symphonia globulifera* in French Guiana. **Heredity**, v. 93, p. 585-591, 2004.
- DICK, C. W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of Neotropical trees (*Dinizia excelsia*: Fabaceae) by native insects and Africa honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, v. 12, p. 753-764, 2003.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.
- ELLSTRAND, N. C. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. **Oikos**, p. 77-86, 1992.
- ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 511p.
- ETTORI, L. C. et al. Variabilidade genética em duas populações de *Cordia trichotoma*. *Rev. Inst. Flor.*, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 179-187, 1999.
- FAO. Conservation in-situ de los recursos fitogenéticos. Bases científicas y técnicas. Organization de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura. **Roma**. 1984.
- FERES, J. M.; GUIDUGLI, M. C.; MESTRINER, M. A.; SEBBENN, A. M.; CIAMPI, A. Y.; ALZATE-MARIN, A. L. Microsatellite diversity and effective population size in a germplasm bank of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Leguminosae), an endangered tropical tree: recommendations for conservation. **Genet Resour Crop Evol** v. 56, p. 797–807, 2009.
- FERES, J. M.; MARTINEZ, M. L. L.; MARTINEZ, C. A.; MESTRINER, M. A.; ALZATE-MARIN, A. L. Transferability and characterization of nine microsatellite markers for the tropical tree species *Tabebuia roseo-alba*. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, n. 1, p. 434-437, 2009.

- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. 1998. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: CENARGEN/EMBRAPA. p.220.
- FINKELDEY, R. **An introduction to tropical forest genetics**. Lecture Notes. Göttingen: Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, 1998, 225 p.
- FLEMING, T.H., C.T.SAHLEY, J.N.HOLLAND, J.D.NASON, AND J. L.HAMRICK. Sonoran desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. **Ecol. Monogr.** v. 71, n. 4, p. 511–530, 2001.
- FRANCESCHINELLI, E. V.; BAWA, K. S. The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). **Heredity**, v. 84, n. 1, p. 116-123, 2000.
- FRANKEL, O. H.; E. BENNETT. Genetics resources in plants-their exploration and conservation. **Blackwell Scientific Publications**. Oxford. 1970.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, SP: SBG – Sociedade Brasileira de Genética, p. 280, 2008.
- FRANKLIN, I. R. Conservation Biology, an evolutionary-ecological perspective. In: SOULE, M. E.; BA, E. W. (Ed.). **Evolutionary changes in small populations**. Sunderlands: Sinauer Associates. Conservation Biology, an evolutionary-ecological perspective, 1980. p.135-149.
- FUCHS, E.J.; LOBO, J.A. & QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, v. 17, n. 1, p. 149-157, 2003.
- GAIANO, 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 tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 11, p. 1631-1643, 2010.
- GALGARO, M.L., LOPES, C.R., GIMENES, M.A., VALLS, J.F.M., KOCHERT, G. 1998. Genetic variation between several species of sections Extra nervosae, Caulorrhizae, Heteranthae, and Triseminatae (genus *Arachis*) estimated by DNA polymorphism. **Genome** 41: 445-54.
- 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 tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, v. 11, p. 1631–1643, 2010.
- GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progênies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis** Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 395-404, dez. 2009.

GENTRY, A. H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica**, Lawrence, v. 6, n. 1, p. 64-68, 1974.

GOEDERT, C. O. Histórico e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: NASS, L. L. (Ed). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 25-60.

GOLDSTEIN, D. B; SCHÖTTERER, C. 1999. **Microsatellites, Evolution and Applications**. Oxford University Press.

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S.; ECKERT, C. G. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 47-79, 2005.

GOTTLIEB, L. D. Electrophoretic evidence and plant population. **Progress in phytochemistry**, London, v. 7, p. 1-46, 1981.

GOUDET, J. FSTAT (version 2.9.3.2): a computer program to calculate F-statistics. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 6, p. 485, 1995.

GOUDET, J. 2002. **FSTAT (Versão 2.9.3.2)**: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Disponível em: [<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>].

GRATTAPAGLIA, D.; RIBEIRO, V.J.; REZENDE, G.D.S.P. Retrospective selection of elite parent trees using paternity testing with microsatellite markers: an alternative short term breeding tactic for Eucalyptus. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.109, p.192-199, 2004.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Conservation genetics of endemic plant species, In: AVISE, J.C; HAMRICK, J. L. (Eds.). **Conservation Genetics: a case histories from nature**. New York: Chapman & Hall, 1996. cap 9, p. 281-304.

HAMRICK, J. L.; NASON, J. D. Gene flow in forest trees. in: T. J. B. BOYLE, A. YOUNG; BOSHIER, D. (Eds.). **Forest Conservation Genetics: Principles and Practice**. Australia, 2000. p. 81-90.

HOLSINGER, K. E. Reproductive systems and evolution in vascular plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 13, p. 7037, 2000.

JAIN, S. K. Genetic variation in populations: an important tool for ecological report. Paper presented at the 10th **R.E.A.**, Mar del Plata.1982.

JANZEN, D. H. When is it coevolution? **Evolution** v. 34, p. 611–612, 1980.

JONES, M. E.; SHEPHERD, M.; HENRY, R.; DELVES, A. Pollen flow in *Eucalyptus grandis* determined by paternity analysis using microsatellite markers. **Tree Genetics & Genomes**, v. 4, n. 1, p. 37-47, 2008.

- KAYA, N.; ISIK, K.; ADAMS, W.T. Mating system and pollen contamination in a *Pinus brutia* seed orchard. **New Forest**, Amsterdam, v.31, p.409-416, 2006.
- KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v. 16, p. 1099-1106, 2007.
- KENTA, T.; ISAGI, Y.; NACAGAWA, M.; YAMACHITA, M.; NAKASHIZUCA, T. Variation in pollen dispersal between years with different pollination conditions in a tropical emergent tree. **Molecular Ecology**, v.13, p. 3575-3584, 2004.
- LACERDA, A. E. B.; KANASHIRO, M. SEBBENN, A. M. Effects of Reduced Impact Logging on genetic diversity and spatial genetic structure of a *Hymenaea courbaril* population in the Brazilian Amazon Forest. **Forest Ecology and Management**. v. 255, n. 4, p. 1034–1043, 2008.
- LEDERMAN, I. E.; SILVA JUNIOR, J. F. da; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. de MELO. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez). In: LENDERMAN, I. E. **Série frutas nativas**. Jaboticabal: Funep, 2000. 35 p.
- LEDERMAN, I. E.; BEZZERA, J. E. F. Situação Atual e Perspectivas da Cultura. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LEDO, A. S. (Ed.). **A cultura da Mangaba**. 1. ed. Aracaju, 2006. cap. 19, p. 247 – 253.
- LEÓN, O., DIAZ, M., PETEIRA, B., CINTRA, D. 1998. Applications of molecular markers in the characterization of genetic variability of plant germplasm collections. **Rev. Prot. Veg.** 13: 69-74.
- LEVIN, D. A.; KESTER, H. W. Gene flow in seed plants. **Evolutionary biology**, v. 7, p. 139-220, 1974
- LEVIN, D. A. Dispersal versus gene flow in plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 233-253, 1981.
- LIAN, C.; MIWA, M.; HOTETSU, T. Outcrossing and paternity analysis of *Pinus densiflora* (Japanese red pine) by microsatellite polymorphism. **Heredity**, v. 87, p. 88-98, 2001.
- LITT, M. & J. A. LUTY. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal Human Genetics**, v.44, p. 397-401.
- LORENZI, H. E. M.; F.J de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, 2002. 512p.
- LOVELESS, M. D.; J. L. HAMRICK. Ecological determinants of genetic structure of plant populations. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** 15:65-95, 1984.

- MACARTHUR, R. H.; PIANKA, E. R. On optimal use of a patchy environment. **American naturalist**, v. 100, p. 603-609, 1966.
- MANICA, I. Mangaba. In: **Frutas nativas, silvestres e exóticas 2: técnicas de produção e mercado**. Feijão, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba. Porto Alegre: Cinco Continentes. 2002. p. 459-540.
- MANIFESTO, M.M., SCHLATTER, A.R., HOPP, H.E., SUAREZ, E.Y., DUBCOVSKY, J. 2001. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. **Crop Sci.** 41: 682-90.
- MARTINS, K.; CHAVES, L. J.; BUSO, G. S. C.; KAGEYAMA, P. Y. Mating system and fine-scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St. Hil.(Solanaceae) in the Brazilian Cerrado. **Conservation Genetics**, v. 7, n. 6, p. 957-969, 2006.
- MEYER, D. **Árvores Evolutivas Humanas: Uma discussão sobre inferência filogenética**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 162p, 1995.
- MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). Lilloa, **Tucumán**, v. 11, p-19-48, 1945.
- 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**, v. 43, p. 1-8, 2010.
- MORIGUCHI, Y.; TAIRA, H.; TANI, N.; TSUMURA, Y. Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomeria japonica* determined using microsatellite markers. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.34, p.1683-1690, 2004.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, v. 67, n. 2, p. 167-174, 1991.
- MURAWSKI, D.A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from a canopy perspective. In: Lowman, M. D.; Nadkarmi, N. M. (Eds.). **Forest canopies**. Academic Press, New York, 1995. p.457-493.
- NAKANISHI, A.; TOMARU, N.; YOSHIMARU, H.; MANABE, T.; YAMAMOTO, S. Effects of seed- and pollen-mediated gene dispersal on genetic structure among *Quercus salicina* saplings. **Heredity**, v. 102, p. 182-189, 2009.
- NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 29-56.
- NAVES, R. V. **Espécies frutíferas nativas dos cerrados de Goiás: caracterização e influências do clima e dos solos**. 1999. 224 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

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

OUBORG, N.J.; PIQUOT, T.; GROENENDAEL, M.V. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. **Journal of Ecology**, Durham, v. 87, n. 4, p. 551-568, 1999.

PAETKAU, D.; CALVERT, W.; STIRLING, I.; STROBECK, C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Molecular Ecology**, v. 4, n. 3, p. 347-354, 1995.

PAIVA, J. R.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Outcrossing rates inbreeding coefficients in rubber trees (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.D.R. de Juss.) Muell. Arg.). v. 16, n. 4, p. 1003-1011, 1993.

PARENTE, T. V.; MACHADO, J. W. B. Germinação de sementes de mangaba (*Hancornia pubescens* Ness e Mart.) proveniente de frutos colhidos em diferentes graus de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, BA, v. 8, n. 1, p. 39-43, 1986.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; JÚNIOR, J. F. D.; SILVA, D. B. D. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. (Ed.). Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil. 1ª edição, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006, v. 1, cap. 12, p. 188-215.

PEREIRA, M. F.; BANDEIRA, L. F.; BLANCO, A. J. V.; CIAMPI, A. Y.; COELHO, A. S. G. Development of microsatellite markers in *Annona crassiflora* Mart., a Brazilian Cerrado fruit tree species. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 6, p. 1329-1331, 2008.

PEREIRA-NETO, A. B.; McCOWN, B. H. Reguladores de crescimento *in vitro*. In: SILVA JUNIOR, J. F. da; LÉDO, A. da. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 135-152.

PINTO, C. E.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae)? **Plant Biology**, Stuttgart v. 10, p. 408-412, 2008.

PLOMION, C.; LÉPROVOST, G.; POT, D.; VENDRAMIN, G.; GERBER, S.; DECROOCQ, S.; BRACH, J.; RAFFIN, A.; PASTUSZKA, P. Pollen contamination in a maritime pine polycross seed orchard and certification of improved seeds using chloroplast microsatellites. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.31, p.1816-1825, 2001.

POWELL, W., OROZCO CASTILLO, C., CHALMERS, K.J., PROVAN, J., WAUGH, R. 1995. Polymerase chain reaction-based assays for the characterization of plant genetic resources. **Electrophoresis**. v. 16, p. 1726-30.

RABELO, S. G.; TEIXEIRA, C. F.; TELLES, M. P. C.; COLLEVATTI, R. G. Development and characterization of microsatellite markers for *Lychnophora ericoides*, an endangered Cerrado shrub species. **Conservation Genetics Resources**, p. 1-3, 2011.

RIBEIRO, A. R.; RODRIGUES, F. M. Genética da conservação em espécies vegetais do cerrado. **Rev. Ci. Méd. Biol.**, Salvador, v. 5, n. 3, p. 253-260, 2006.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity**, v. 47, n. 1, p. 35-52, 1981.

RITLAND, K.; EL-KASSABY, Y.A. The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas-fir as shown by an efficient multilocus model. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.71, p.375-384, 1985.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity**, v. 88, n. 4, p. 221-228, 2002.

ROBLEDO-ARNUNCIO, J. J.; ALÍA, R.; GIL, L. Increased selfing and correlated paternity in a small population of a predominantly outcrossing conifer, *Pinus sylvestris*. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 2567–2577, 2004.

RODRIGUES, A. J. L. **Desenvolvimento e caracterização de marcadores microssatélites e estrutura genética de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. 2009. 106 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

RODRIGUES, E. B. **Sistema reprodutivo e fluxo gênico via Pólen em uma coleção de germoplasma de *Eugenia dysenterica* DC**. 2010. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

ROJAS, S.; CLEMENT, Y. K.; NAGAO, E. O. Diversidade genética em acessos do banco de germoplasma de camu-camu (*Myrciaria dúbia* [H.B.K.] McVaugh) do INPA usando marcadores microssatélites (EST-SSR). **Revista Corpoica - Ciência y Tecnologia Agropecuária**. v. 12, n. 1, p. 51-64, 2011.

SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 3, p. 369-378. 2001.

SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N. Criopreservação de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 231-280 p.

SATO, T.; ISAGI, Y.; SAKIO, H.; OSUMI, K.; GOTO, S. Effect of gene flow on spatial genetic structure in the riparian canopy tree *Cercidiphyllum japonicum* revealed by microsatellite analysis. **Heredity**, v. 96, p. 79–84, 2006.

SCARIOT, A. O.; SEVILHA, A. C. Conservação *in situ* de Recursos Genéticos Vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

SCHLOTTERER, C. AND D. TAUTZ. Slippage synthesis of simple sequence DNA. **Nucleic Acids Research**. v.20, p. 211-215. 1992.

SCHEMSKE, D. W.; LANDE, R. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observation. **Evolution**, Lancaster, v. 39, p. 41-52, 1985.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*). **Scientia Florestalis**, v. 58, p. 127-143, 2000.

SEBBENN, A. M., FREITAS, M. L. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAES, E.; MORAES, M. A. Conservação *ex situ* e pomar de sementes em banco de germoplasma de *Balfourodendron riedelianum*. **Rev. Inst. Flor**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 101-112, dez. 2007.

SEBBENN, A. M.; CARVALHO, A. C. M.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, S. M. B.; GAINO, A. P. S. C.; SILVA, J. M.; JOLIVET, C.; MORAES, M. L. T. Low levels of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, v. 106, p. 134-145, 2011.

SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 69, p. 13-24, 2005.

SIGRIST, M. S. **Divergência genética em *Curcuma longa* L. utilizando marcadores microssatélites e agromorfológicos**. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) -, Instituto Agrônomo, Campinas, SP, 2009.

SILVA, D. B. da; SILVA, J. A. da; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas dos Cerrados**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2001, 178p.

SILVA, M. B.; KANASHIRO, M.; CIAMP, A. Y.; THOMPSON, I; SEBBENN, A. M. Genetic effects of selective logging and pollen gene flow in a low-density population of the dioecious tropical tree *Bagassa guianensis* in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**. v. 255, n. 6, p. 1548–1558, 2008.

SILVA-JUNIOR, J. F. & LEDO, A. S. Botânica. In: SILVA-JUNIOR, J. F. & LEDO, A. S. **A cultura da Mangaba**. 1 ed. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. v. 1, cap. 1, p. 25 - 33.

SILVERTOWN, J. The evolutionary maintenance of sexual reproduction: evidence from the ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. **International Journal of Plant Sciences**, v. 169, n. 1, p. 157-168, 2008.

SIQUEIRA, A. C. M. F.; NOGUEIRA, J. C. B.; KAGEYAMA, P. Y. Conservação de recursos genéticos *ex situ* de cumbaru (*Dipteryx alata* Vog.) - Leguminosae. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 231-43, 1993.

SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. **Annual Review Ecology System**. v. 16., p. 393–430, 1985.

SLATKIN, M. “An exact test for neutrality based on the Ewens sampling distribution”. **Genetical Research**, v.64, p. 71-74, 1994.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 139, p. 457–462, 1995.

SLAVOV, G.T.; HOWE, T.H.; ADAMS, T. Pollen contamination and mating patterns in a Douglasfir seed orchard as measured by simple sequence repeated markers. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.35, p.1592-1603, 2005.

SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, v. 197, p. 21-38, 2004.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M. de.; SIVA, D.R.G.; PAIVA, P.D.O. Cultura da Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Boletim Agropecuário - UFPA**, Lavras, n.67, p.1-12, 2006.

SOARES, T. N.; MELO, D. B.; RESENDE, L. V.; VIANELLO, R. P.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C. Development of microsatellite markers for the neotropical tree species *Dipteryx alata* (Fabaceae). **American journal of botany**, v. 99, n. 2, p. e72-e73, 2012.

SOLBRIG, O. T.; SOLBRIG, D. J. **An Introduction to Population Biology and Evolution**, 1979.

SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. (Bombacaceae) **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 113-121, 2003.

SORK, V. L.; NANSON, J.; CAMPBELL, D. R.; FERNANDEZ, J. F. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. **Trends in Ecology & Evolution**, v.13, n. 5, p. 219-224, 1999.

STATSOFT, S. 7.0 Software. **StaSoft, Tucksas, USA**, 2005.

STOEHR, M. U.; NEWTON, C. H. Evaluation of mating dynamics in a lodgepole pine seed orchard using chloroplast DNA markers. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 32, p. 469-476, 2002.

TARAZI, R. **Diversidade genética, estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de *Copaifera langsdorffii* Desf. no Cerrado**. 2009. 140 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

VALLOIS, A. C.; NASS, L. L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos

vegetais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 123-147 p.

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of Representativeness Used in Genetic Resources Conservation and Plant Breeding. **Crop Science**, v. 43, p. 1912-1921, 2003.

VENCOVSKY, R.; NASS, L. L.; CORDEIRO, C. M. T.; FERREIRA, M. A. J. Amostragem em recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L. (Ed). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 231-280.

VIEIRA NETO, R. D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 16p. (Circular Técnica n.2).

VIEIRA NETO, R. D. **Recomendações técnicas para o cultivo da mangabeira**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001. 20 p. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Circular Técnica, 20.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005, 778 p.

WANG, K.S. Gene flow in European beech (*Fagus sylvatica* L.). **Genética**, Dordrecht, v. 122, p. 105-113, 2004.

WAGNER, H. W; SEFC, K. M. 1999. **IDENTITY, 1.0**. Centre for Applied Genetics. University of Agricultural Sciences, Vienna.

WASER, N. M.; CHITTKA, L.; PRICE, M. V.; WILLIAMS, N. M.; OLLERTON, J. Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology**, v. 77, n. 4, p. 1043-1060, 1996.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis II**. Sinauer Associates, 1996.

WENDT, S. N.; DE SOUSA, V. A.; QUOIRIN, M.; MAZZA, M. C.; STURION, J. A.; SEBBENN, A.M. Low pollen contamination rate, deviations from random matings, and inbreeding in an *Ilex paraguariensis* I. seed orchard. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 82, p. 185-196, 2009

WORKMAN, P. L.; NISWANDER, J. D. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal of Human Genetics**, v. 22, n. 1, p. 24, 1970.

WRIGHT, S. Systems of mating. II. The effects of inbreeding on the genetic composition of a population. **Genetics**, v. 6, n. 2, p. 124, 1921.

WRIGHT, S. Breeding structure of populations in relation to speciation. **The American Naturalist**, Chicago, v.74, p. 232-248, 1940.

YORINORI, J. T.; KIIHL, R. A. D. S. Melhoramento de plantas visando resistência a doenças. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS (Ed.). **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 715-736 p.

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 130 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.