

DEPRESSÃO POR ENDOGAMIA EM POPULAÇÕES DE JEQUITIBÁ-ROSA¹

Alexandre Magno SEBBENN²

Alexandre Siqueira Guedes COELHO³

Paulo Yoshio KAGEYAMA⁴

Antonio Carlos Scatena ZANATTO²

RESUMO

Este trabalho relata o estudo da depressão por endogamia em progênies de três populações de jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze., aos 17 anos de experimentação, em dois locais do Estado de São Paulo. Os ensaios foram instalados no ano de 1982, a partir de progênies de polinização aberta, no delineamento de blocos de famílias compactas, objetivando a conservação *ex situ* da espécie. Um terço das plantas ensaiadas foram avaliadas para quatro caracteres quantitativos: forma do fuste, DAP, altura total e volume cilíndrico e por 14 locos isoenzimáticos. Os indivíduos de cada população foram agrupados em cinco classes de acordo com o crescimento em DAP e estimadas as respectivas médias fenotípicas dos caracteres, heterozigosidade média observada e o índice de fixação. A análise de regressão linear entre os caracteres e os índices de diversidade evidenciou a tendência do aumento do crescimento com o aumento da heterozigosidade e redução na endogamia, sugerindo seleção para heterozigotos. Todavia, a análise de divergência genética entre as frequências alélicas dos grupos indicou que a endogamia detectada é função do sistema reprodutivo e não de seleção, sugerindo, por sua vez, que os indivíduos de menor desempenho seriam o resultado da depressão por endogamia. A quantificação da depressão por endogamia revelou valores superiores a 20%, 68%, 63% e 90% para caracteres forma do fuste, DAP, altura e volume cilíndrico, respectivamente. São também avaliadas as implicações destes resultados para a conservação *ex situ* e para o melhoramento genético.

Palavras-chave: *Cariniana legalis*; eletroforese de isoenzimas; depressão por endogamia; conservação *ex situ*; melhoramento florestal.

1 INTRODUÇÃO

A endogamia é o aumento da homozigose em indivíduos originados de autofecundação, cruzamento entre aparentados ou mais raramente pela seleção para homozigotos dentro de uma população. Em populações naturais de espécies arbóreas, a endogamia pode ser gerada pelo comportamento dos polinizadores,

ABSTRACT

This research studies the inbreeding effects on three populations of jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze., with 17 years old of experimentation, planted in two localities of São Paulo State. The assay was implanted in 1982, in compact family block design with the purpose of *ex situ* conservation. One third of all individuals was measured for quantitative traits, stem shape, DBH, height and wood volume and using 14 polymorphic isozymes loci. The individuals of each population were grouped in five classes based on diameter and they were estimated by their respective phenotypic average of the traits, observed heterozygosity and fixation index. The analysis of linear regression among traits and index of diversity, showed the tendency in increasing in grown with increasing of heterozygosity and reduction of the inbreeding, suggesting that it is happening selection in favor to heterozygous. However, the analysis of genetic divergence among allelic frequencies of each group, has indicated with the detected inbreeding is function of the mating system and not of the selection, suggesting that the individuals of smaller performance should be the result of the inbreeding effects. The quantification of inbreeding effects showed 20%, 68%, 63% and 90% to stem shape, DBH, height and wood volume, respectively. They were also appraised the implications of those results for *ex situ* conservation and for the genetic improvement.

Key words: *Cariniana legalis*; isozymes; *ex situ* conservation; inbreeding; forest tree improvement.

visitando principalmente flores de uma mesma árvore (autofecundação), devido à estruturação interna das populações, em grupos de indivíduos aparentados, localizados espacialmente próximos, ou pela redução do tamanho das populações. Em populações submetidas a programas de melhoramento, a endogamia pode ser forçada pelos melhoristas através da autofecundação ou cruzamento entre aparentados.

(1) Aceito para publicação em maio de 2001.

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

(3) UFG, Caixa Postal 131, 74001-970, Goiânia, GO, Brasil.

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

A mais notável consequência da endogamia é a redução do valor fenotípico médio, mostrado pelos caracteres relacionados com a capacidade reprodutiva ou eficiência fisiológica (Allard, 1971; Ritland, 1996; Falconer & MacKay, 1997), fenômeno conhecido por depressão por endogamia (Mather, 1994). Quando ocorrem cruzamentos entre aparentados e autofecundação, as progênes tendem a ser menos vigorosas e menos férteis do que progênes de cruzamentos (Allard, 1971). Populações de cruzamento, historicamente grandes, que repentinamente declinam para uns poucos indivíduos, também reduzem a variabilidade e a fecundidade (Falconer & MacKay, 1997). Esta depressão por endogamia é totalmente removida quando indivíduos endogâmicos são cruzados e em algumas circunstâncias o desempenho é aumentado pelo vigor de híbrido ou heterose (Matheson *et al.*, 1995; Mitton, 1989).

O grau com que a depressão por endogamia estará envolvida na expressão de um caráter depende da magnitude da endogamia, de sua base genética, do número de locos que contribuem para o fenômeno e da magnitude dos efeitos dos alelos destes locos (Lande *et al.*, 1994). Muitos estudos têm demonstrado que a depressão por endogamia pode ser gerada por alelos de efeito recessivo ou sobredominante (Charlesworth & Charlesworth, 1987). Existem, na realidade, duas principais hipóteses para explicar a base genética da depressão por endogamia: a hipótese da sobredominância e a hipótese da dominância parcial ou balanço mutação-seleção. Ambas dependem do fato de que a autofecundação aumenta a homozigose nas progênes, em relação a uma progênie de cruzamento. Assim, de acordo com a hipótese da sobredominância, progênes de cruzamento apresentam melhor desempenho por possuírem uma grande proporção de locos para adaptação em heterozigose e muitos destes locos são sobredominantes, ou seja, o melhor desempenho ocorre devido à vantagem dos heterozigotos em locos adaptativos. Já, de acordo com a hipótese de dominância parcial ou balanço mutação-seleção, a causa da menor adaptação de progênes derivadas de autofecundação em relação à de cruzamentos é a exposição de genes recessivos letais e mutações deletérias nas progênes endogâmicas (Mitton, 1989; Kärkkäinen *et al.*, 1996; Koelewijn, 1998; Koelewijn *et al.*, 1999). Estas duas hipóteses têm sido testadas em vários caracteres e espécies de plantas, a fim de determinar qual é a verdadeira causa da depressão por endogamia ou quando uma é mais importante que a outra.

Todavia, segundo Mitton (1989), nenhuma destas duas hipóteses têm sido rejeitadas e parece provável que ambas contribuam para o fenômeno. Mas, segundo Crow (1993), os alelos letais parecem ser a causa da redução da produtividade pelo aborto de sementes e mortalidade das plantas e os alelos deletérios pelas alterações negativas do fenótipo dos indivíduos como perda de forma, fertilidade e menor produção de sementes. Em um estudo recente, Remington & O'Malley (2000) utilizaram-se de técnicas de mapeamento genômico para detectar locos que controlam caracteres quantitativos (QTLs), em uma progênie da autofecundação de *Pinus taeda*. Os autores detectaram dois QTLs, sendo que ambos mostraram evidências de sobredominância. Os resultados também revelaram que a depressão por endogamia para crescimento em altura não estava associada aos alelos de pequenos efeitos e que os locos que afetam a depressão por endogamia atuam em estágios específicos do crescimento.

A epistasia também pode atuar para produzir depressão por endogamia, porém apenas na presença de dominância direcional. A presença de epistasia na depressão por endogamia é indicada quando a relação entre a depressão por endogamia e o coeficiente de endogamia não é linear. Se os locos se combinam aditivamente, a mudança da média de uma população com a endogamia é diretamente proporcional ao coeficiente de endogamia (f), e a mudança da média é linear, quando traçada em função de f . Se existe interação epistática entre locos, a relação entre a média e o coeficiente de endogamia não é linear, devido aos desvios de interação de duplos ou múltiplos locos heterozigotos (Crow & Kimura, 1970; Falconer & MacKay, 1997). Contudo, mesmo se a relação é linear, quando existem efeitos epistáticos negativos e positivos, um pode cancelar o outro, mascarando a epistasia. Entretanto, devido a, geralmente, não existir significantes desvios do modelo linear, os efeitos da epistasia sobre a depressão por endogamia não parecem ser importantes (Crow & Kimura, 1970). Ritland (1996) atentou para o fato de que na fase inicial de experimentação pode ocorrer a extinção de indivíduos que possuem alelos que em combinação são deletérios, mascarando o sinergismo negativo (interação negativa entre locos adaptativos). Assim, a regressão de adaptação sobre o coeficiente f pode tornar-se linear quando as linhagens ou indivíduos extintos são ignorados, porém, curvilíneos quando são incluídos.

Os efeitos da depressão por endogamia sobre um caráter quantitativo podem ser expressos em termos de uma função de dependência da média do caráter sobre o coeficiente de endogamia f (Charlesworth & Charlesworth, 1987). Então a média de uma população com endogamia f é $\bar{x}_s = \bar{x}_c - 2pqdf$, sendo: \bar{x}_c a média da população sem endogamia, p e q as frequências dos alelos A e a (no caso de um loco com dois alelos) e d o valor genotípico do caráter em um indivíduo heterozigoto. Assim, se não houver dominância ($d = 0$), a autofecundação não altera a média. Mas se A é dominante ou sobredominante sobre a ($d > 0$), a média declina com o grau de endogamia (Crow & Kimura, 1970; Futuyma, 1992; Falconer & MacKay, 1997).

Quando são comparadas progênies de autofecundação com as de cruzamentos, muitos estudos com coníferas florestais e folhosas têm exibido depressão por endogamia para produção de sementes, floração, germinação, sobrevivência, crescimento, entre progênies, entre populações e aumentos na variação fenotípica dentro de progênies. Estudos têm mostrado que a depressão por endogamia pode reduzir o peso da semente e aumentar a mortalidade em plantios (Sorensen & Miles, 1974). Estes autores observaram ainda, depressão para crescimento em *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus ponderosa* na ordem de 18 e 21%, respectivamente, nos primeiros anos de experimentação e mortalidades de 11 e 9%, respectivamente. Libby *et al.* (1981) verificaram que os crescimentos em altura das progênies de autofecundação de *Sequoia sempervirens*, após um ano de plantio em viveiro e no campo eram de 35 e 20%, respectivamente, inferiores ao crescimento das progênies de cruzamentos entre aparentados. Após 4 anos de ensaio, os resultados tornaram-se mais contrastantes; as progênies de autofecundação apresentavam 42% da altura e 29% do DAP das progênies de cruzamentos entre aparentados. Sorensen & Miles (1982) observaram que a depressão por endogamia em *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus ponderosa* e *Abies procera* para sobrevivência nos dois primeiros anos de plantio variou de 3 a 16% e na idade de 10 anos de 0,4 a 3%. Já, para altura de plantas, os autores verificaram uma variação de 24 a 30% nos dois primeiros anos e entre 29 a 36% na idade de 10 anos. Wilcox (1983) relatou depressão por endogamia de menos de 1% por cada aumento de 10% no coeficiente de endogamia para forma

do fuste e 4,0% para compressão da madeira, em *Pinus radiata*. Geburek (1986) observou em *Picea omorika* que a altura e o DAP aos 15 anos de idade eram 27,3 e 53,6% superiores em progênies de cruzamentos em relação à de autofecundação. Já, aos 24 anos de idade a superioridade do DAP de progênies de cruzamentos chegava a 50,5%, comparativamente à de autofecundação. Griffin & Cotterill (1988), estudando *Eucalyptus regnans*, notaram que aos 45 meses, a altura, o DAP e o volume das progênies de cruzamentos eram em média 11, 18 e 37%, respectivamente, superiores ao das progênies de autofecundação. Também observaram diferenças na depressão por endogamia em relação às árvores maternas, com valores variando entre 25,1% a 62,8% para volume, sugerindo que alguns indivíduos podem gerar mais depressão do que outros, devido possivelmente à maior carga genética. Snieszko & Zobel (1988) estudando *Pinus taeda*, em condições de viveiro, encontraram baixas evidências de depressão por endogamia. Os autores atribuíram este resultado às ótimas condições de experimentação. Durel *et al.* (1990) quantificaram a depressão por endogamia em *Pinus pinaster*, aos 10 anos de idade, na ordem 27, 37, 63, 23 e 89% para altura, circunferência à altura do peito (1,3 m), volume cilíndrico, área basal e fertilidade materna (número de cones), respectivamente. Kärkkäinen & Savolainen (1993), estudando como a depressão por endogamia inicial poderia determinar a taxa de autofecundação em *Pinus sylvestris*, verificaram que genótipos com menor número de embriões letais tinham mais altas taxas de autofecundação. Hardner & Potts (1995) notaram em *Eucalyptus globulus* ssp *globulus* menor crescimento para progênies de autofecundação em relação às progênies de cruzamento e polinização aberta. Matheson *et al.* (1995) observaram que progênies de autofecundação de *Pinus elliotii* var. *elliottii* tinham menor média em DAP e volume do que de cruzamento. Kärkkäinen *et al.* (1996) pesquisando a variação geográfica da depressão por endogamia em *Pinus sylvestris* encontraram variação entre regiões na taxa média de aborto de sementes e no número de embriões letais em progênies de autofecundação, sugerindo que diferentes populações possam apresentar diferentes cargas genéticas. Hardner & Potts (1997) também observaram variação na depressão entre diferentes populações de *Eucalyptus regnans*, para sobrevivência aos 15 anos de idade, sendo esta, em média, 67% maior nas progênies de autofecundação.

Sorensen (1997), estudando progênies de *Pseudotsuga menziesii*, notou que a depressão por endogamia para taxa de crescimento em altura e DAP era de 6 e 8%, respectivamente, para um aumento de 10% no coeficiente de endogamia (f). Wu *et al.* (1998) verificaram que depressão por endogamia em *Pinus radiata*, aos 12 anos de idade, reduziu o DAP, a altura e a sobrevivência. Neste caso a depressão por endogamia chegou a 19% para DAP e 11% para sobrevivência em duas gerações de autofecundação. Koelewijn *et al.* (1999) observaram em *Pinus sylvestris* alta depressão por endogamia para maturação de sementes ($\hat{\delta} = 0,74$) e para sobrevivência pós-germinação (variação entre 0,62 a 0,75), mas não foram observadas depressão por endogamia significativa para altura de plantas ($\hat{\delta} = 0,05$) e florescimento ($\hat{\delta} = 0,014$), aos 23 anos de idade. Entre progênies a depressão por endogamia foi alta ($\hat{\delta} = 0,90-0,94$) e significativamente diferente entre plantas maternas (variando de 0,45 a 1,00). Remington & O'Malley (2000), estudando QTLs em uma progênie de autofecundação de *Pinus taeda*, identificaram dois QTLs que eram responsáveis pela variação fenotípica para altura de plantas aos 3 anos de idade e acomodavam 13% da depressão por endogamia para este caráter.

Na literatura, também existem estudos relatando que a depressão por endogamia está linearmente correlacionada com o coeficiente de endogamia (Snieszko & Zobel, 1988; Durel *et al.*, 1990; Matheson *et al.*, 1995; Sorensen, 1997; Wu *et al.*, 1998). Outro aspecto interessante foi observado por Libby *et al.* (1981) e Snieszko & Zobel (1988). Estes autores verificaram que sob boas condições de viveiro, as progênies de autofecundação não apresentavam depressão por endogamia, mas sob condições de estresse a taxa de sobrevivência era menor em progênies de autofecundação, relativamente à de cruzamento. Em muitos estudos também foram observados que as variâncias fenotípicas dentro de progênies de autofecundação eram maiores do que a de cruzamento (Snieszko & Zobel, 1988; Geburek, 1986; Hardner & Potts, 1995; Matheson *et al.*, 1995; Wu *et al.*, 1998).

Um outro ponto importante a ser considerado é que a variação na depressão por endogamia entre progênies de polinização aberta pode levar a erros nas estimativas dos coeficientes de herdabilidade no sentido restrito, correlações

genéticas e ganhos preditos na seleção. Esta variação na endogamia é confundida com os efeitos de progênies *per se* e pode aumentar substancialmente a estimativa da variância genética aditiva (e eventualmente a covariância). Por isso, deve-se ter cautela no uso de estimativas de parâmetros genéticos de progênies de polinização aberta como base para a construção de índices de seleção para a estimativa de ganhos (Griffin & Cotterill, 1988).

Apesar de todos os trabalhos de depressão por endogamia relatados, não existem estudos desta natureza com espécies florestais nativas brasileiras, mas acredita-se que os efeitos da endogamia sobre o fenótipo das árvores sejam similares. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre o desempenho fenotípico dos caracteres quantitativos frente ao aumento da taxa de fixação de alelos ou coeficiente de endogamia em jequitibá-rosa - *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze., aos 17 anos de experimentação, a fim de quantificar a provável depressão por endogamia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de Estudo e Delineamento Experimental

No ano de 1981, o Instituto Florestal de São Paulo coletou sementes de *C. legalis*, em três populações naturais do Estado de São Paulo: Campinas (Bosque dos Jequitibás - Lat. 22°55'S., Long. 47°03'W., alt. 652 a 681 m, área \cong 10 ha), Piracicaba (Estação Ecológica de Ibicatu - Lat. 22°47'S., Long. 47°49'W., alt. 500 m, área \cong 76 ha) e Santa Rita do Passa Quatro (Parque Estadual da Vassununga - Lat. 21°41'S., Long. 47°39'W., alt. de 520 a 700 m, área \cong 191,0 ha), sendo tais populações denominadas de Campinas, Ibicatu e Vassununga, respectivamente. Na população Campinas, foram coletadas sementes de 17 matrizes de polinização aberta; em Ibicatu de 16 matrizes e em Vassununga de 22 matrizes. Nas populações Campinas e Ibicatu a coleta foi em todas as árvores, tratando-se assim de um censo. Em 1982, as progênies foram plantadas na Estação Experimental de Pederneiras (Lat. 22°22'S., Long. 48°44'W., alt. 500 m, precipitação média anual de 1.112 mm, solo do tipo Latossolo Amarelo, fase arenosa e clima do tipo Cwa) e na Estação Experimental de Luiz Antonio (Lat. 21°40'S., Long. 47°49'W., alt. 550 m, precipitação média anual de 1.280 mm, solo do tipo Latossolo Roxo e clima do tipo Cwa).

O delineamento adotado foi o de blocos de famílias compactas, com 6 repetições, subparcelas lineares com 5 plantas e uma bordadura externa de duas linhas. Mas, devido ao pequeno número de mudas produzidas em 5 progênies da população Vassununga, em Pedemeiras, esta população foi representada por 22 progênies e em Luiz Antonio por 17. O espaçamento utilizado nos dois ensaios foi 3,0 x 2,0 metros e em Luiz Antonio foi realizada uma desrama em 1990, quando as árvores estavam com 8 anos de idade.

2.2 Amostragem

Os ensaios foram avaliados para quatro caracteres quantitativos e quatorze locos isoenzimáticos. Os caracteres quantitativos avaliados foram: forma do fuste (FF), diâmetro a altura do peito (DAP), altura total (ALT) e volume cilíndrico (VC). A forma de avaliação dos caracteres quantitativos e das isoenzimas encontram-se descritas detalhadamente em Sebbenn (2001).

Para a avaliação genética da espécie por isoenzimas, no ano de 1999, realizou-se uma amostragem de tecidos foliares de 1.232 árvores (39,1%), no total dos dois ensaios. Em cada ensaio foram selecionadas as 30 maiores e 30 menores

árvores de cada população, para o DAP (caráter medido com maior precisão), utilizando-se o índice de seleção multi-efeitos (Resende & Higa, 1994), totalizando 360 árvores da amostra. O restante das árvores (872 árvores), foi amostrado aleatoriamente dentro dos ensaios, procurando-se genotipar uma média de 20 plantas por progênie. O número de indivíduos amostrados por progênies variou de 9 a 31, com média de 24,1 para a população Campinas, 24,1 para Ibicatu e 19,8 para Vassununga (TABELA 1).

A eletroforese foi horizontal, conduzida em meio suporte de gel de 2/3 de amido de milho (penetrose 30) a 13%, combinado com 1/3 de amido de batata (Sigma). Detalhes sobre o processo de eletroforese são apresentados em Sebbenn (2001). As isoenzimas reveladas foram: Fosfatase Ácida (ACP-E.C. 3.1.3.2), Alfa-Esterase (α -EST-E.C. 3.1.1.1), 6-Fosfogluconato Desidrogenase (6PGDH-E.C. 1.1.1.44), Fosfogluucose Isomerase (PGI-E.C. 5.3.1.9), Isocitrato Desidrogenase (IDH-E.C. 1.1.1.42), Malato Desidrogenase (MDH-E.C. 1.1.1.37), Peroxidase (PRX-E.C. 1.11.1.7), Xiquimato Desidrogenase (SKDH-E.C. 1.1.1.25) e Glucose 6 Fosfato Desidrogenase (G6PDH-E.C. 1.1.1.49). Os protocolos de revelação das isoenzimas encontram-se em Alfenas (1998).

TABELA 1 - Amostragem para avaliação isoenzimática.

| Árvores amostradas | | | | | | | |
|--------------------|------------|-------|---------|-----------|---------|-------|-------------|
| Local | População | Prog. | Menores | Aleatório | Maiores | | |
| Luiz Antonio | Campinas | 17 | 30 | 110 | 30 | | |
| | Ibicatu | 16 | 30 | 100 | 30 | | |
| | Vassununga | 17 | 30 | 100 | 30 | | |
| | Total | 50 | 90 | 310 | 90 | | |
| Pederneiras | Campinas | 17 | 30 | 180 | 30 | | |
| | Ibicatu | 16 | 30 | 166 | 30 | | |
| | Vassununga | 22 | 30 | 216 | 30 | | |
| | Total | 55 | 90 | 562 | 90 | | |
| Conjunta | Campinas | 17 | 60 | 290 | 60 | Total | Média/Prog. |
| | Ibicatu | 16 | 60 | 266 | 60 | 410 | 24,1 |
| | Vassununga | 22 | 60 | 316 | 60 | 386 | 24,1 |
| | Total | 55 | 180 | 872 | 180 | 436 | 19,8 |
| | | | | | | 1.232 | |

Prog.: progênies.

2.3 Análise Estatística

A diversidade genética nas classes de crescimento foi analisada pela heterozigosidade média observada, diversidade gênica esperada segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg e índice de fixação de Wright, estimativas obtidas a partir do programa GDA de Lewis & Zaykin (1999). A heterozigosidade observada (\hat{H}_o) para cada loco foi obtida por: $\hat{H}_o = 1 - \sum P_{ii}$, sendo, P_{ii} = frequência dos genótipos homozigotos. A diversidade gênica esperada (\hat{H}_e) para cada loco foi obtida segundo Nei (1978) por: $\hat{H}_e = 1 - \sum p_i^2$, onde: p_i = frequência alélica estimada do i -ésimo alelo. O índice de fixação de Wright (\hat{f}) foi estimado, segundo Weir (1996), pela expressão:

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

Para verificar se os valores de \hat{f} em nível de média de locos era estatisticamente diferente de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade pelo método de reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 reamostragens sobre os locos, através do programa GDA de Lewis & Zaykin (1999).

Para o estudo da depressão por endogamia utilizaram-se somente as plantas amostradas simultaneamente para os caracteres quantitativos e para as isoenzimas. Assim, foram criadas 5 classes de distribuição para cada população em cada local, com base no caráter DAP (TABELA 2). A criação de classes específicas para cada população, em cada ambiente foi necessária devido às diferenças no desempenho das populações, nos dois locais de ensaio.

Então, foi estimada a média dos caracteres quantitativos (variável dependente) para cada classe e submetidos à análise de regressão linear, para verificar a dependência destes em função da heterozigosidade e do índice de fixação (variável independente). A regressão foi realizada com base em Beiguelman (1996).

TABELA 2 - Intervalo de classes da distribuição diamétrica (DAP) de três populações de *C. legalis* em dois locais de ensaio (LA - Estação Experimental de Luiz Antonio e PE - Estação Experimental de Pederneiras).

| Classe | Campinas | | Ibicatu | | Vassununga | |
|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | LA | PE | LA | PE | LA | PE |
| 1 | < 6,0 | < 6,0 | ≤ 6,0 | ≤ 6,0 | ≤ 6,0 | < 6,0 |
| 2 | > 6,0 a 11,0 | 6,0 a 10,0 | > 6,0 a 11,0 | > 6,0 a < 10,0 | > 6,0 a 11,0 | 6,0 a 10,0 |
| 3 | > 11,0 a < 17,0 | > 10,0 a < 16,0 | > 11,0 a 16,0 | ≥ 10,0 a ≤ 15,0 | > 11,0 a < 17,0 | > 10,0 a < 15,0 |
| 4 | 17,0 a 21,0 | 15,0 a < 19,0 | > 16,0 a < 22,0 | > 15,0 a < 19,0 | 17,0 a 21,0 | 15,0 a < 19,0 |
| 5 | > 21,0 | ≥ 19,0 | ≥ 22,0 | ≥ 19,0 | > 21,0 | ≥ 19,0 |

Com o intuito de testar se os locos isoenzimáticos envolvidos na análise estavam sofrendo seleção, ou se não existiam diferenças nas frequências alélicas entre as classes, realizou-se uma análise de variância para frequências alélicas, com base em Weir (1996), considerando o efeito de grupo como fixo (TABELA 3). Para verificar se os valores da divergência genética entre os grupos ($\hat{\phi}_G$) eram diferentes de zero, utilizou-se 10.000 reamostragens *bootstrap* sobre os locos, através do programa GDA de Lewis & Zaykin (1999). O modelo estatístico da análise da variância foi:

$$Y_{ijk} = m + e_i + d_{j(i)} + g_{k(ij)}$$

Onde:

- Y_{ijk} = frequência do gene k , dentro do indivíduo j , dentro do grupo i ;
- m = média geral da frequência alélica;
- e_i = efeito do grupo i , com ($i = 1, 2, \dots, e$);
- $d_{j(i)}$ = efeito do indivíduo j , dentro do grupo i , com ($j = 1, 2, \dots, d$), e
- $g_{k(ij)}$ = efeito do gene k , dentro do indivíduo j , dentro do grupo i , com ($k = 1, 2, \dots, n_{ij}$).

Os componentes de variância foram obtidos por:

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_G^2 &= QMg; \\ \hat{\sigma}_i^2 &= (QMd - QMg) / 2, \text{ e} \\ \hat{\phi}_G &= (QMe - QMd) / k_1. \end{aligned}$$

TABELA 3 - Análise da variância de frequências alélicas entre grupos para modelo fixo.

| FV | GL | QM | E(QM) |
|---------------------|--------------------|-----|--|
| Entre grupos | $e - 1$ | QMe | $\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2 + K_1\hat{\phi}_G$ |
| Indivíduos/grupos | $\sum_i (n_i - 1)$ | QMd | $\hat{\sigma}_G^2 + 2\hat{\sigma}_I^2$ |
| Genes/indiv./grupos | $n.. - \sum_i n_i$ | QMg | $\hat{\sigma}_G^2$ |
| Total | $n.. - 1$ | QMt | |

K_1 = corresponde ao coeficiente de variância entre grupos, no modelo fixo hierárquico desbalanceado.

Por sua vez, a medida de divergência genética entre os grupos foi dada por:

$$\hat{\theta}_G = \frac{\hat{\phi}_G}{\hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\phi}_G}$$

A depressão por endogamia ($\hat{\delta}$) foi quantificada pela expressão:

$$\hat{\delta} = \left(1 - \frac{\bar{x}_{f-maior}}{\bar{x}_{f-menor}} \right) \times 100$$

onde:

$\bar{x}_{f-maior}$ e $\bar{x}_{f-menor}$ referem-se às médias fenotípicas do caráter no grupo de maior e menor índice de fixação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A depressão por endogamia foi abordada criando-se cinco classes de distribuição fenotípicas em cada população, com base no DAP, e estimando-se seus respectivos parâmetros: heterozigosidade observada e índice de fixação (TABELA 4). Os resultados mostraram uma clara associação entre os caracteres e a heterozigosidade observada e o índice de fixação. Quanto maior o

crescimento dos caracteres, maior é a heterozigosidade e menor é o índice de fixação. Porém, avaliando-se o intervalo de confiança de \hat{f} , observa-se que seus valores entre as classes, nas populações, não foram significativamente diferentes, com exceção da classe 1 e 5 na população Vassununga, que mostrou diferenças significativas. Também se observa que, mesmo na classe de melhor desempenho (classe 5), o índice de fixação foi alto (mínimo 0,198), indicando altos níveis de endogamia nas populações.

A associação estatística entre os caracteres e os parâmetros \hat{H}_o e \hat{f} para as classes de crescimento nas populações foi avaliada pelo coeficiente de regressão linear (\hat{b}) e coeficiente de determinação linear [\hat{r}^2 (Eq. linear)] e exponencial [\hat{r}^2 (Eq. exp.)], apresentados nas TABELAS 5 e 6.

Na TABELA 5 nota-se que o coeficiente de regressão (\hat{b}) dos caracteres sobre \hat{H}_o foi significativo na população Campinas para o FF, Ibicatu para FF e ALT e Vassununga para DAP, ALT e VC. Assim, quanto maior a heterozigosidade, maior é o valor do caráter. Para estes casos, os coeficientes de determinação [\hat{r}^2 (Eq. linear)] também foram expressivos, variando de valores moderados (0,70) a altos (0,97). A associação positiva entre caracteres e a heterozigosidade nas três populações é um forte indicativo de seleção contra homozigotos.

TABELA 4 - Tamanho da amostra (*n*), média fenotípica para quatro caracteres (FF, DAP, ALT, VC), heterozigosidade observada (\hat{H}_o) e índice de fixação (\hat{f}), para cinco intervalos de classes, em três populações de *C. legalis*.

| Pop. | Classe | <i>n</i> | FF | DAP (cm) | ALT (m) | VC (m³) | \hat{H}_o | \hat{f} (IC) |
|---------|--------|----------|------|----------|---------|---------|-------------|-----------------------|
| Camp. | 1 | 46 | 1,52 | 6,24 | 5,30 | 0,020 | 0,212 | 0,459 (0,372 a 0,535) |
| | 2 | 83 | 1,76 | 10,28 | 8,62 | 0,082 | 0,259 | 0,368 (0,246 a 0,471) |
| | 3 | 126 | 1,92 | 13,78 | 11,29 | 0,189 | 0,253 | 0,359 (0,248 a 0,459) |
| | 4 | 115 | 1,93 | 15,97 | 12,36 | 0,267 | 0,267 | 0,334 (0,197 a 0,459) |
| | 5 | 52 | 2,07 | 19,64 | 14,59 | 0,483 | 0,265 | 0,331 (0,194 a 0,470) |
| Ibicatu | 1 | 42 | 1,47 | 4,91 | 4,89 | 0,012 | 0,219 | 0,422 (0,313 a 0,514) |
| | 2 | 84 | 1,74 | 8,56 | 8,52 | 0,053 | 0,256 | 0,334 (0,237 a 0,439) |
| | 3 | 149 | 1,85 | 12,95 | 10,88 | 0,150 | 0,264 | 0,327 (0,205 a 0,446) |
| | 4 | 80 | 1,92 | 17,71 | 13,10 | 0,332 | 0,279 | 0,317 (0,209 a 0,428) |
| | 5 | 31 | 1,85 | 22,18 | 14,17 | 0,583 | 0,275 | 0,305 (0,164 a 0,430) |
| Vassun. | 1 | 63 | 1,46 | 4,58 | 5,17 | 0,010 | 0,214 | 0,459 (0,340 a 0,554) |
| | 2 | 107 | 1,70 | 8,59 | 8,66 | 0,054 | 0,235 | 0,382 (0,282 a 0,478) |
| | 3 | 139 | 1,85 | 12,83 | 11,48 | 0,154 | 0,299 | 0,267 (0,126 a 0,414) |
| | 4 | 80 | 1,91 | 17,75 | 13,42 | 0,364 | 0,329 | 0,221 (0,076 a 0,371) |
| | 5 | 39 | 1,88 | 23,09 | 15,01 | 0,665 | 0,378 | 0,198 (0,069 a 0,317) |

Onde: IC = intervalo de confiança a 95% de probabilidade, estimado a partir de 10.000 reamostragens *bootstrap* sobre locos; Pop. = Populações; Camp. = Campinas; Vassun. = Vassununga; FF = fator de forma (1 pior forma e 5 melhor forma do fuste); DAP: diâmetro a altura do peito; ALT = altura total; VC = volume cilíndrico.

TABELA 5 - Intercepto (\hat{a}), coeficiente de regressão (\hat{b}) e coeficiente de determinação para regressão linear [\hat{r}^2 (Eq. linear)] e exponencial de [\hat{r}^2 (Eq. exp.)] para os caracteres sobre a heterozigosidade observada (\hat{H}_o), em três populações de *C. legalis*.

| Pop. | Caráter | \hat{a} | \hat{b} | \hat{r}^2 (Eq. linear) | \hat{r}^2 (Eq. exp.) |
|------------|---------|-----------------|------------------|--------------------------|------------------------|
| Campinas | FF | -0,21 (0,65) | 8,16 (2,56)* | 0,70* | 0,77* |
| | DAP | -34,05 (18,86) | 188,03 (74,84) | 0,57 | 0,73* |
| | ALT | -23,59 (12,02) | 47,68 (2,84) | 0,64 | 0,75* |
| | VC | -1,16 (0,85) | 5,43 (3,39) | 0,28 | 0,51 |
| Ibicatu | FF | -0,13 (0,18) | 7,32 (0,70)* | 0,96** | 0,97** |
| | DAP | -52,06 (21,05) | 252,61 (81,13) | 0,68 | 0,85* |
| | ALT | -28,38 (6,51)* | 149,65 (25,08)** | 0,90** | 0,95** |
| | VC | -1,64 (0,99) | 7,22 (3,83) | 0,39 | 0,69 |
| Vassununga | FF | 1,06 (0,24)* | 2,39 (0,80) | 0,66 | 0,74* |
| | DAP | -17,91 (2,52)** | 107,40 (8,48)** | 0,97** | 0,98** |
| | ALT | -5,62 (2,34) | 56,39 (7,87)** | 0,93** | 0,93** |
| | VC | -0,85 (0,21) | 3,76 (0,72)* | 0,87* | 0,99** |

(*) $P \leq 0,05$.
(**) $P \leq 0,01$.

TABELA 6 - Intercepto (\hat{a}), coeficiente de regressão (\hat{b}) e coeficiente de determinação para regressão linear [\hat{r}^2 (Eq. linear)] e exponencial de [\hat{r}^2 (Eq. exp.)] para os caracteres sobre o índice de fixação (\hat{f}), em três populações de *C. legalis*.

| Pop. | Caráter | \hat{a} | \hat{b} | \hat{r}^2 (Eq. linear) | \hat{r}^2 (Eq. exp.) |
|------------|---------|----------------|-----------------|--------------------------|------------------------|
| Campinas | FF | 3,25 (0,28)** | -3,81 (0,75)* | 0,86* | 0,92** |
| | DAP | 46,27 (9,17)* | -89,37 (24,58)* | 0,75* | 0,94** |
| | ALT | 34,09 (5,47)** | -63,90 (14,66)* | 0,82* | 0,94** |
| | VC | 1,20 (0,47) | -2,68 (1,27) | 0,46 | 0,87* |
| Ibicatu | FF | 3,01 (0,21)** | -3,65 (0,62)** | 0,89* | 0,92** |
| | DAP | 55,01 (16,54)* | -122,52 (48,16) | 0,58 | 0,96** |
| | ALT | 35,40 (6,16)* | -73,62 (17,94)* | 0,79* | 0,96** |
| | VC | 1,41 (0,72) | -3,49 (2,09) | 0,31 | 0,98** |
| Vassununga | FF | 2,25 (0,09)** | -1,61 (0,27)** | 0,90** | 0,91** |
| | DAP | 32,51 (3,64)** | -62,69 (11,34)* | 0,88* | 0,98** |
| | ALT | 21,39 (0,87)** | -34,84 (2,71)** | 0,98** | 0,98** |
| | VC | 0,87 (0,24)* | -2,03 (0,73) | 0,62 | 0,99** |

(*) $P \leq 0,05$.

(**) $P \leq 0,01$.

Por sua vez, na TABELA 6, observa-se que o coeficiente de regressão sobre o índice \hat{f} foi negativo em todas as situações, sendo significativo na população Campinas e Vassununga para o FF, DAP e ALT e na população Ibicatu para o FF e ALT, mostrando que quanto menor é o índice \hat{f} , maiores são as médias dos caracteres. Da mesma forma que a situação anterior, o coeficiente \hat{r}^2 (Eq. linear) também foi maior nas situações de regressão significativa, variando, igualmente, de valores moderados (0,75) a altos (0,98). Estes resultados sugerem fortes evidências de depressão por endogamia nos ensaios, em especial na população Vassununga. Plantas com menor número de locos em heterozigose e maior endogamia apresentam menor desempenho para os caracteres e a seleção natural parece estar atuando contra a endogamia. Existem fortes evidências de seleção contra homozigotos

entre a fase de plântula e a fase adulta em espécies arbóreas (Mitton & Grant, 1980; Ledig *et al.*, 1983; Strauss, 1987; Murawski *et al.*, 1990; Murawski & Hamrick, 1992; Murawski & Bawa, 1994; Sebbenn *et al.*, 1998). Assim, a seleção natural estaria favorecendo indivíduos com maior heterozigosidade e estes apresentariam vantagens adaptativas, o que, por sua vez, sugere a presença de sobredominância para locos adaptativos.

As associações entre os caracteres e os índices de diversidade nas TABELAS 5 e 6 podem ser melhor visualizadas nas FIGURAS 1 a 6. Nestas fica clara a tendência do aumento da média dos caracteres com o aumento das heterozigosidades e redução do índice \hat{f} nas classes, nas três populações. Observa-se também, um melhor ajuste das equações lineares na população Vassununga. Contudo, analisando-se os pontos nos gráficos, nota-se a tendência a uma distribuição não linear, mas sim, quadrática.

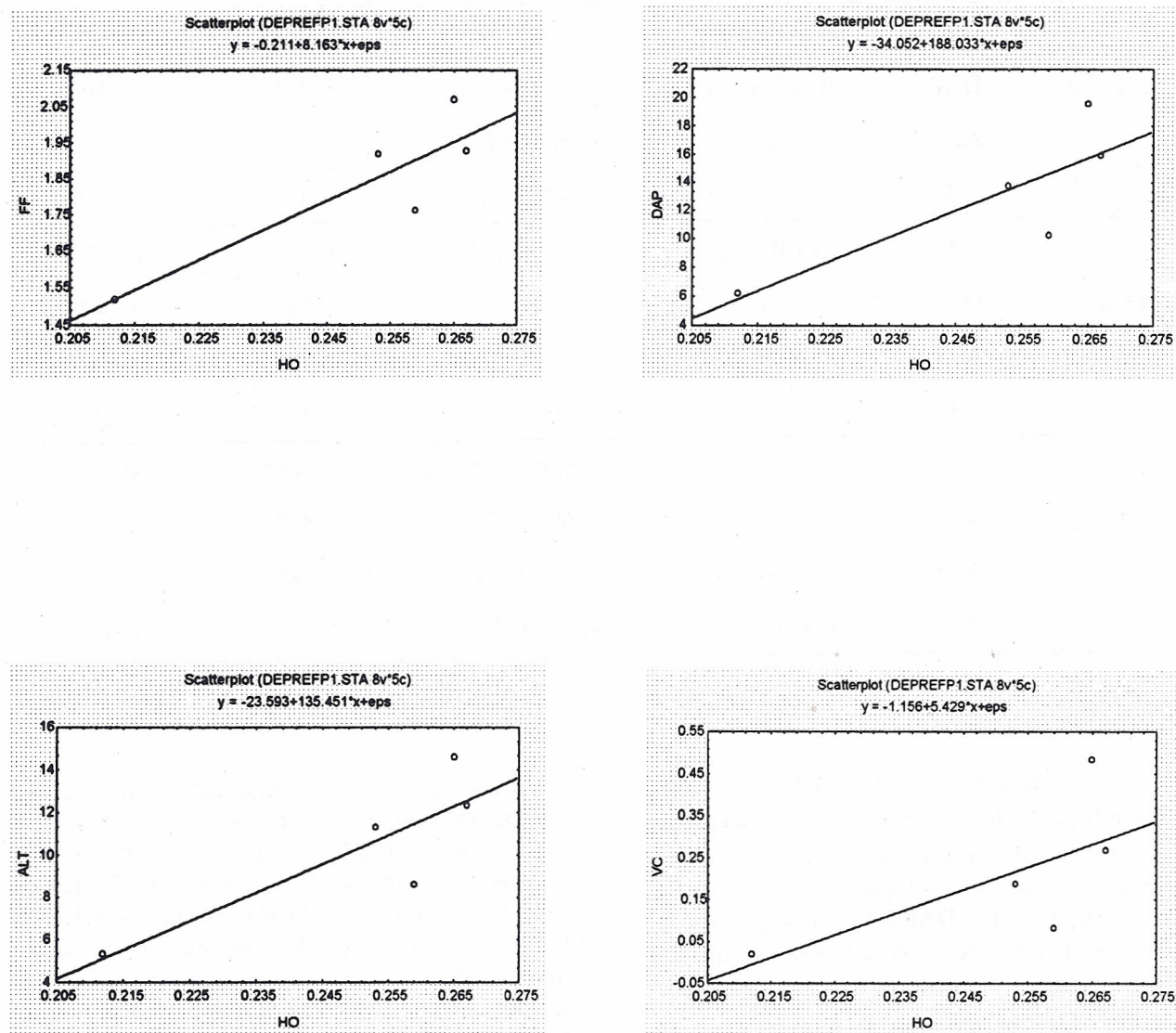


FIGURA 1 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função da heterozigosidade observada (\hat{H}_o) na população Campinas de *C. legalis*.

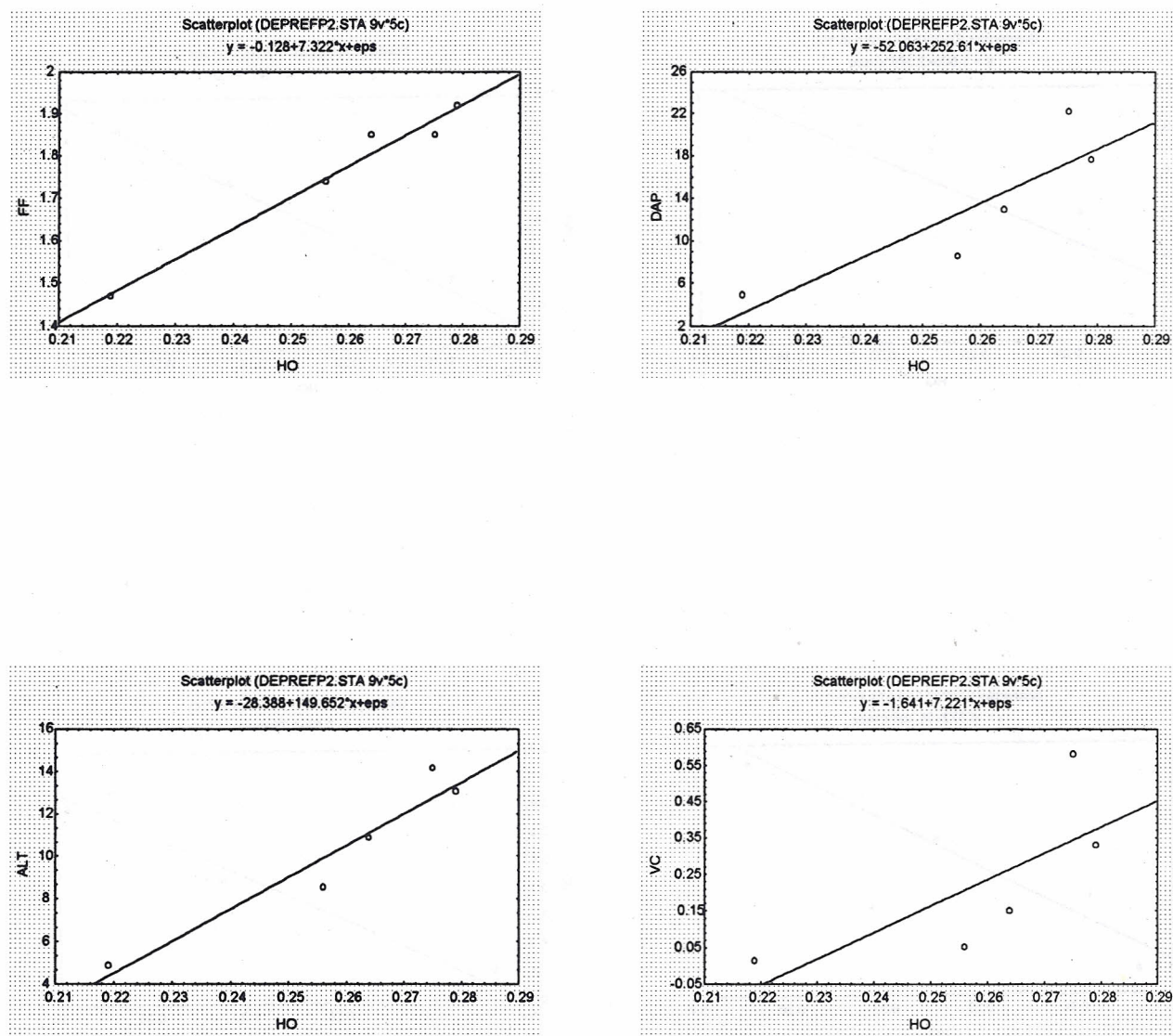


FIGURA 2 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função da heterozigosidade observada (\hat{H}_o) na população Ibicatu de *C. legalis*.

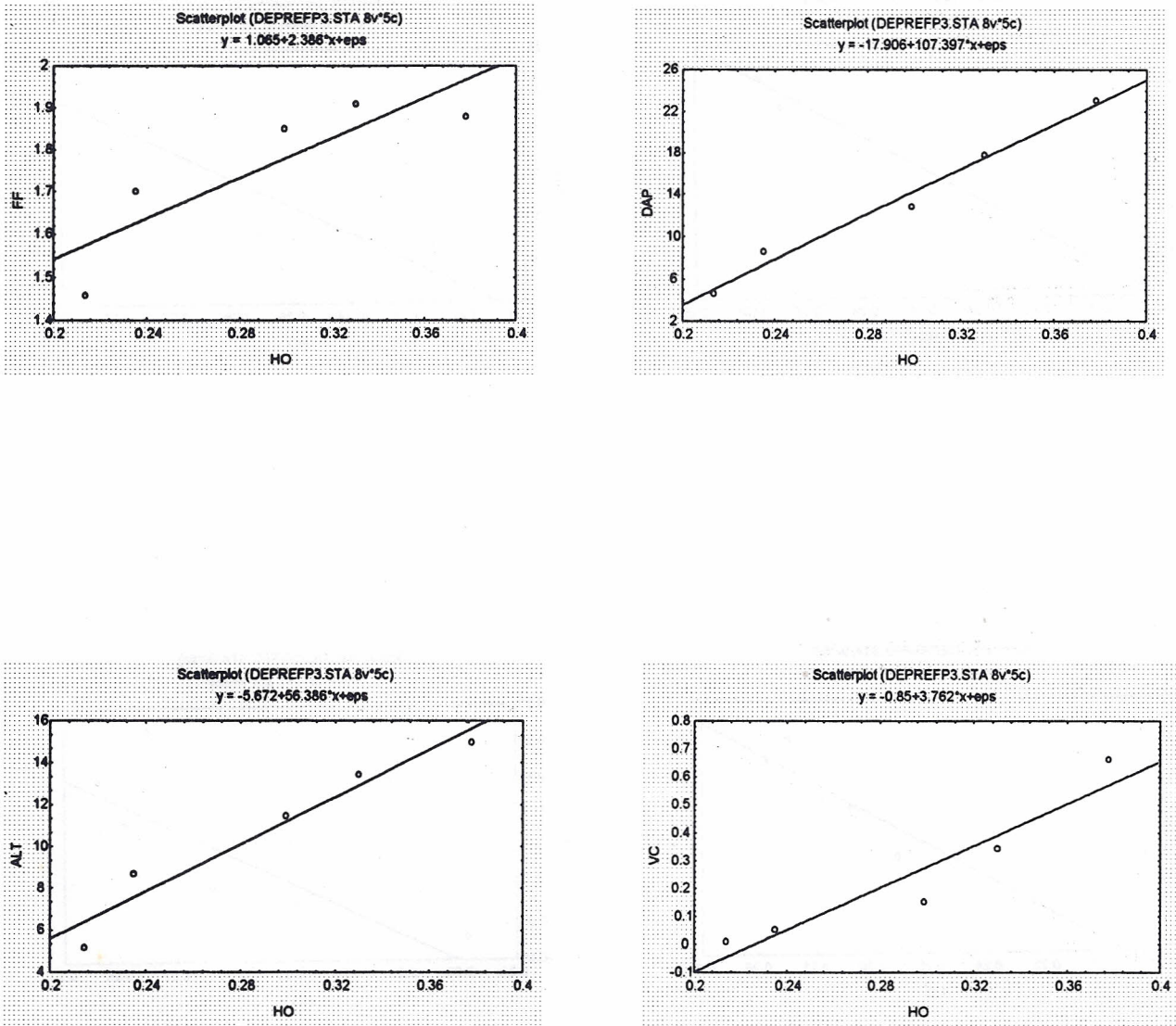


FIGURA 3 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função da heterozigosidade observada (\hat{H}_o) na população Vassununga de *C. legalis*.

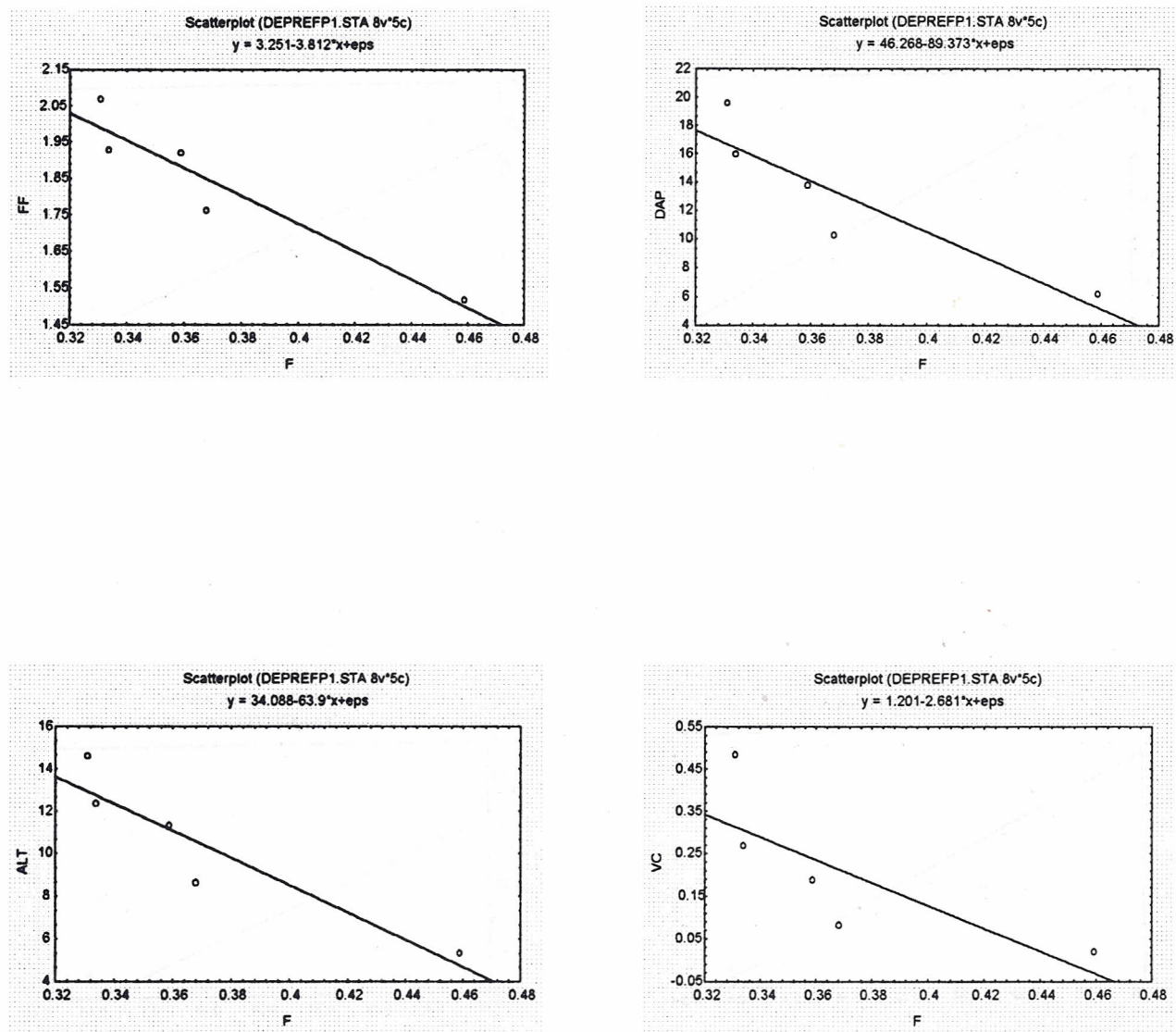


FIGURA 4 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função do índice de fixação (\hat{f}) na população Campinas de *C. legalis*.

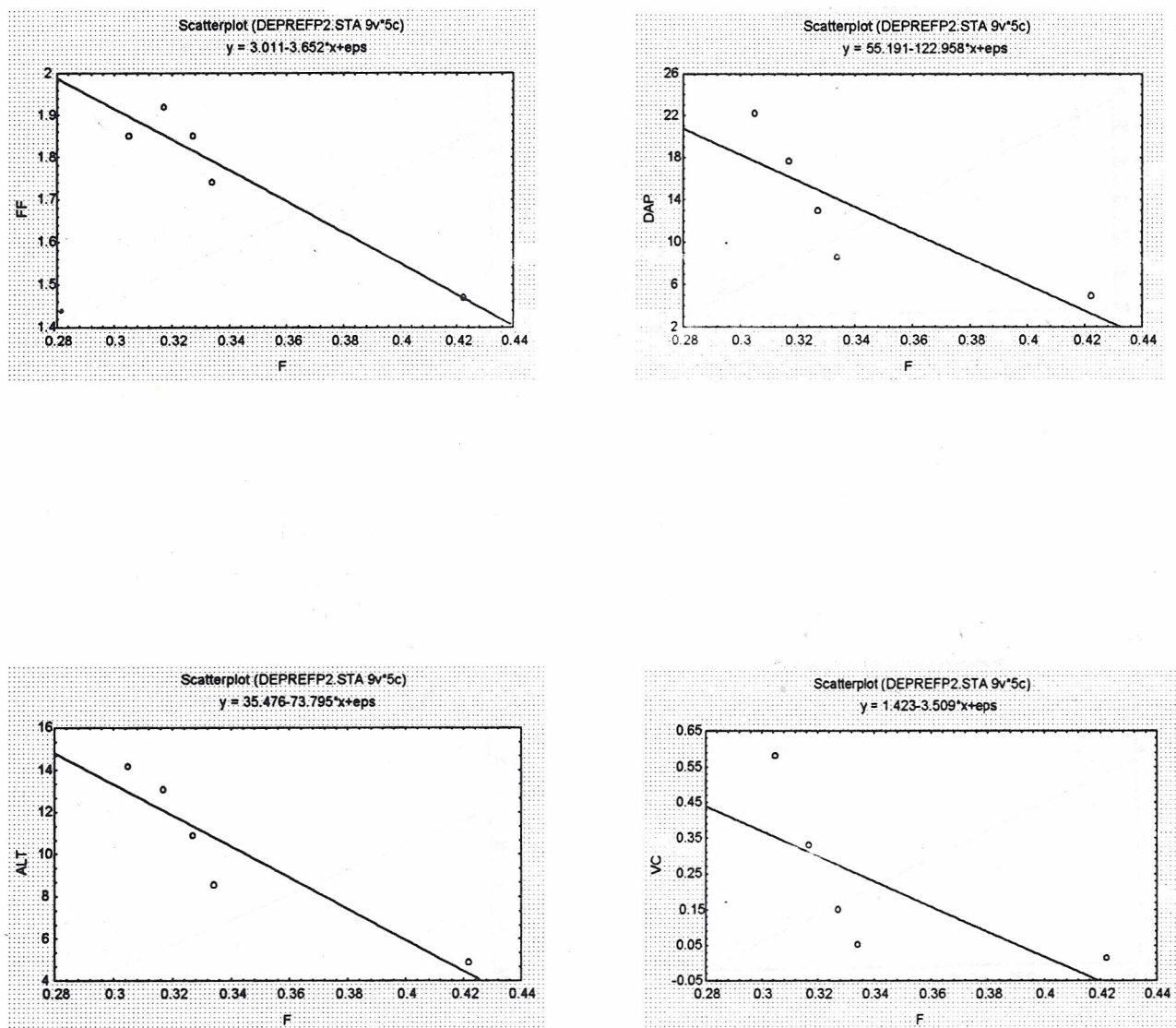


FIGURA 5 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função do índice de fixação (\hat{f}) na população Ibicatu de *C. legalis*.

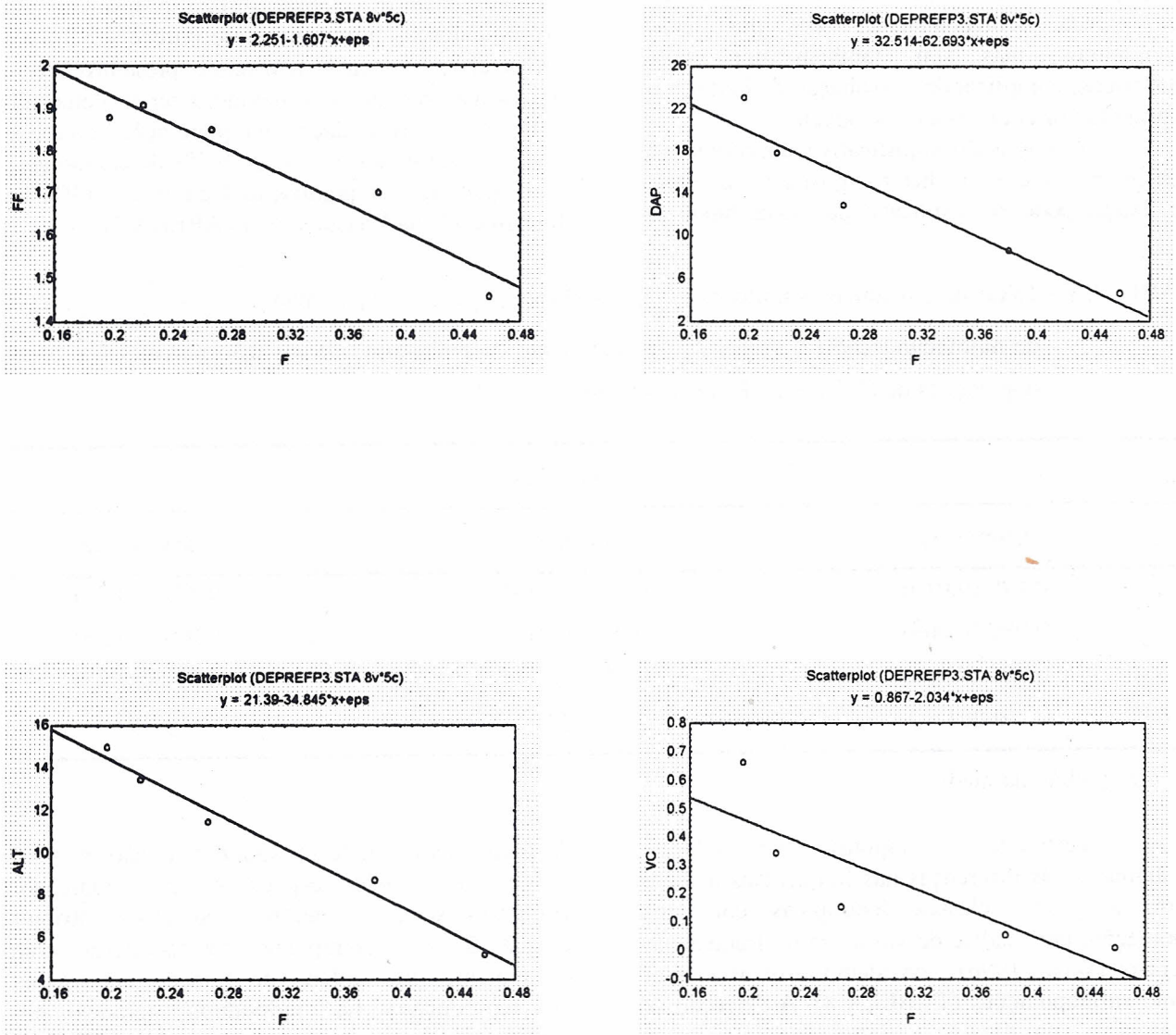


FIGURA 6 - Gráficos da forma do fuste (FF), diâmetro à altura do peito (DAP), altura (ALT) e volume cilíndrico (VC) em função do índice de fixação (\hat{f}) na população Vassununga de *C. legalis*.

O ajuste às equações não lineares revelou altos e significativos coeficientes de determinação [\hat{r}^2 (Eq. exp.)] para quase todos os caracteres, nas populações, em especial para o coeficiente de endogamia (\hat{r}^2 mínimo = 0,87). Estes resultados revelam que a herança da depressão por endogamia, nas populações de *C. legalis*, não é causada somente por efeitos sobredominantes ou por genes detrimenais, mas sim, também por efeitos epistáticos, complicando a avaliação da herança da depressão por endogamia, na espécie.

A regressão significativa observada nos caracteres sobre a heterozigosidade e índice de fixação pode ser explicada por duas hipóteses:

primeiro, sugere-se que as isoenzimas estão sofrendo seleção, ou estão fortemente associadas a locos que determinam a expressão dos caracteres em estudo; segundo, elas descrevem o comportamento do sistema de reprodução, ou seja, os indivíduos de pior desempenho seriam o resultado de autofecundação ou cruzamentos entre parentes e os de melhor seriam o resultado de cruzamentos. A última hipótese parece ser a mais provável, considerando a natureza presumivelmente neutra das isoenzimas e devido a ter-se detectado 2,4% de autofecundação na população Ibicatu e 9,9% na Vassununga, e mais, 9,1% de cruzamento entre parentes na população Campinas, 5,9% na Ibicatu e 7% na Vassununga (TABELA 7).

TABELA 7 - Taxas de cruzamentos unilocos (\hat{t}_s), multilocos (\hat{t}_m), entre aparentados ($\hat{t}_p = \hat{t}_m - \hat{t}_s$), taxa de autofecundação ($\hat{s} = 1 - \hat{t}_m$) e coeficiente de endogamia da geração parental (\hat{f}_p) em populações de *C. legalis*. (Fonte: Sebbenn *et al.*, 2001).

| Populações | | | |
|-------------|---------------|---------------|---------------|
| | Campinas | Ibicatu | Vassununga |
| \hat{t}_s | 0,899 (0,016) | 0,916 (0,014) | 0,830 (0,032) |
| \hat{t}_m | 0,990 (0,009) | 0,976 (0,011) | 0,901 (0,025) |
| \hat{t}_p | 0,091 (0,012) | 0,059 (0,011) | 0,070 (0,025) |
| \hat{s} | 0,001 | 0,024 | 0,099 |

(): erro padrão da média.

Testou-se a hipótese de seleção, avaliando-se as diferenças nas frequências alélicas entre as cinco classes fenotípicas em cada população, por análise de variância de frequências alélicas (Weir, 1996), considerando-se as classes como subpopulações (TABELA 8). A detecção de diferenças significativas entre as frequências alélicas dos grupos pode sugerir homogeneidade nas frequências alélicas dentro dos grupos, logo que a seleção esteja favorecendo alelos específicos.

Os resultados mostraram baixa divergência genética entre as classes para todos os locos e média sobre locos nas três populações (< 1%). A significância para as populações Campinas e Vassununga ocorreu devido à consistência nos valores entre locos, levando a uma baixa variância e desvio padrão entre locos, porém, devido às suas magnitudes, podem ser consideradas negligíveis.

A partir disso, pode-se supor que não ocorreu seleção para alelos específicos e o marcador comportou-se como neutro, podendo-se atribuir a redução no desempenho dos caracteres, com o aumento no índice de fixação ao sistema de reprodução. Os indivíduos gerados por autofecundação e por cruzamento entre parentes têm um número maior de locos em homozigose do que indivíduos gerados por cruzamentos entre árvores não aparentadas, o que é refletido no índice de fixação. Assim, a endogamia ou aumento da homozigose, gerada por autofecundação e cruzamento entre parentes, afeta o genoma das plantas como um todo, ou seja, tanto genes que sofrem seleção (adaptativos) como genes neutros e os resultados observados não são nada mais do que o reflexo destas formas de reprodução.

TABELA 8 - Divergência genética entre classes de distribuição de caracteres quantitativos ($\hat{\theta}_G$) para três populações de *C. legalis*.

| Loco | Populações | | |
|---------|-----------------|-------------------|-----------------|
| | Campinas | Ibicatu | Vassununga |
| Acp3 | 0,004 | 0,000 | 0,022 |
| Est-1 | 0,007 | 0,000 | 0,000 |
| Est-2 | 0,043 | 0,011 | 0,020 |
| Pgi-1 | 0,000 | 0,000 | 0,014 |
| Pgi-2 | 0,002 | 0,000 | 0,000 |
| Mdh-1 | 0,000 | 0,000 | 0,004 |
| Mdh-2 | 0,001 | 0,000 | 0,006 |
| Prx-1 | 0,000 | 0,003 | 0,000 |
| Prx-2 | 0,000 | 0,005 | 0,007 |
| Prx-3 | 0,008 | 0,001 | 0,002 |
| 6Pgdh-1 | 0,005 | 0,002 | 0,000 |
| Skdh-1 | 0,004 | 0,010 | 0,007 |
| G6pdh-1 | 0,007 | 0,000 | 0,000 |
| Idh-1 | 0,013 | 0,000 | 0,029 |
| Média | 0,006 | 0,001 | 0,007 |
| | [0,000 a 0,015] | [- 0,003 a 0,004] | [0,002 a 0,012] |

[]: intervalo de confiança a 95% de probabilidade, estimado por 10.000 reamostragens *bootstrap*.

As estimativas da depressão por endogamia ($\hat{\delta}$) para os caracteres nas três populações são apresentadas na TABELA 9. Vale ressaltar que as estimativas são válidas para os intervalos de classes do índice fixação apresentados entre parênteses na TABELA 9, não sendo válidas para valores inferiores e superiores a esses intervalos, devido à falta de ajuste da equação de regressão linear.

Os resultados revelaram altas taxas de depressão por endogamia para os caracteres na espécie. O volume cilíndrico foi o caráter que apresentou os maiores valores (> 90%) e a forma do fuste os menores (< 27%). Como o volume cilíndrico é um caráter estimado a partir do DAP e da altura, e estes apresentaram valores individuais

de depressão alta, era esperada maior depressão para o VC. Durel *et al.* (1990) estudando *Pinus pinaster* aos 10 anos de idade e Griffin & Cotterill (1988) estudando *Eucalyptus regnans* aos 3 anos também observaram maiores valores de depressão por endogamia para o volume cilíndrico (63 e 37%, respectivamente), em relação a outros caracteres de crescimento. O DAP apresentou níveis de depressão um pouco superiores à altura nas três populações, sugerindo que este caráter é mais susceptível à expressão da endogamia. Este mesmo comportamento foi relatado por Geburek (1986) para *Picea omorika*, Griffin & Cotterill (1988) para *Eucalyptus regnans*, Durel *et al.* (1990) para *Pinus pinaster* e Sorensen (1997) para *Pseudotsuga menziesii*, aumentando a probabilidade desta hipótese estar correta.

TABELA 9 - Depressão por endogamia em percentual ($\hat{\delta}$) em caracteres quantitativos, para classes de fixação de alelos observadas nas populações de *C. legalis*.

| Caráter | Populações | | |
|----------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| | Campinas (0,331 a 0,459) | Ibicatu (0,305 a 0,422) | Vassununga (0,198 a 0,459) |
| FF | 26,6% | 20,5% | 22,3% |
| DAP (cm) | 68,2% | 77,9% | 80,2% |
| ALT (m) | 63,7% | 65,5% | 65,6% |
| VC (m ³) | 95,9% | 97,9% | 98,5% |

() Valor mínimo e máximo de \hat{f} apresentado para a população.

Em relação às populações, de modo geral, a população Vassununga revelou os maiores níveis de depressão, seguida da população Ibicatu, e finalmente, da Campinas. O comportamento da depressão por endogamia nas populações agrega-se à magnitude das taxas de autofecundação detectadas nestas populações (TABELA 7), onde Vassununga, Ibicatu e Campinas apresentaram valores de 9,9, 2,4 e 0,1% de autofecundação, respectivamente. Em contraste, a taxa de cruzamento entre parentes foi de 9,1, 5,9 e 7,0%, para estas populações, respectivamente. Parece que a autofecundação foi a principal causa da depressão por endogamia, em concordância com as predições teóricas propostas por Allard (1971), o qual afirma que a autofecundação é uma forma mais drástica de gerar endogamia do que o cruzamento entre parentes, portanto também depressão por endogamia.

Vale ressaltar que os valores de depressão por endogamia aqui observados são superiores aos relatados na literatura. Isto possivelmente está associado à idade de avaliação do experimento. Talvez, se a avaliação tivesse sido realizada em idades mais precoces, os valores teriam sido inferiores. Vários estudos têm observado que a depressão por endogamia aumenta com o aumento da idade das plantas, podendo-se citar os trabalhos de Libby *et al.* (1981), Sorensen & Miles (1982), Geburek (1986). Uma resposta mais precisa sobre este ponto só é possível através de um estudo mais detalhado.

A constatação de que *C. legalis* apresenta forte depressão por endogamia para caracteres de crescimento, tem implicações nas estratégias de recuperação de áreas degradadas, conservação e melhoramento genético.

A recuperação de áreas degradadas e alteradas a partir de sementes coletadas de polinização

livre, em populações naturais de *C. legalis*, pode levar à redução na capacidade adaptativa, reprodutiva, evolutiva e produtiva, caso algumas medidas para minimizar a endogamia, no material coletado, não sejam tomadas. Primeiro, é importante que as sementes para estes fins sejam coletadas de um número grande de árvores (> 50), distanciadas entre si por uma ou algumas centenas de metros. Esta forma de coleta permite reduzir a probabilidade de parentesco entre árvores matrizes, fontes das sementes, aumentando o potencial evolutivo, adaptativo e reprodutivo da espécie nos locais de recuperação. Contudo, esta prática não evita que sementes endogâmicas oriundas de autofecundação e do cruzamento entre parentes sejam excluídas do conjunto gênico. É provável que as sementes endogâmicas sejam em maior parte eliminadas durante a fase de germinação e período de viveiro. Segundo, na fase de viveiro, selecionar para o plantio somente mudas que apresentem boa constituição, colaborando assim, para a eliminação de sementes endogâmicas. Terceiro, deve ser praticado o controle gamético feminino, incluindo-se no conjunto de sementes a mesma quantidade por matriz, estratégia esta que permite maximizar o tamanho efetivo das populações, portanto ampliar seu potencial adaptativo e evolutivo. Quarto, na impossibilidade de coleta de sementes de um grande número de árvores matrizes, não misturar as sementes, mas sim, manter sua identidade, plantando os indivíduos em grupos compostos de diferentes origens maternas. Esta última recomendação, apesar de aumentar os custos da recuperação, pode minimizar o aparecimento de endogamia futura e, portanto, de seus efeitos, a depressão por endogamia, mantendo um certo potencial adaptativo e produtivo na espécie.

Do ponto de vista de conservação genética *ex situ*, a depressão observada prediz que indivíduos mais endogâmicos encontram-se dominados nos ensaios, sendo possível que estes venham a morrer antes dos indivíduos dominantes. Contudo, se a hipótese do menor crescimento realmente estiver associada à presença de genes deletérios nas populações, é desejável que estes indivíduos sejam eliminados do banco, antes da espécie entrar em fase de reprodução, caso contrário, durante o processo de recombinação muitos desses genes serão transferidos para as próximas gerações. A conservação de genes deletérios em alta frequência pode por em risco a manutenção do banco a longo prazo, bem como reduzir seu valor como fonte de sementes para o reflorestamento.

Já, do ponto de vista do melhoramento, a depressão observada tem menor importância, dado que, se os ensaios forem submetidos à seleção, visando sua transformação em “pomares de sementes por mudas”, uma boa parte da carga genética das populações será eliminada, juntamente com os indivíduos endogâmicos. Outra parte, contudo, provavelmente em menor frequência, será mantida em estado de heterozigose, a qual poderá ser eliminada parcialmente em ciclos seletivos subsequentes.

4 CONCLUSÕES

- a) Foram observados aumento na taxa de heterozigotos e redução na taxa de endogamia com o aumento do crescimento dos caracteres, mostrando que indivíduos homozigotos apresentaram menor desempenho e depressão por endogamia.
- b) As análises de regressão linear revelaram razoáveis coeficientes de determinação para os caracteres forma do fuste, DAP e altura em relação à heterozigosidade observada e ao índice de fixação, indicando um bom ajuste dos dados ao modelo linear. Contudo, os dados revelaram melhor ajuste às equações exponenciais, indicando que a herança da depressão por endogamia inclui efeitos epistáticos, além da possível sobredominância ou dominância.
- c) A comparação das frequências alélicas dos diferentes grupos mostrou baixa divergência genética entre grupos, indicando que há ausência de seleção para os locos isoenzimáticos e que as isoenzimas comportaram-se como neutras, sendo que as diferenças observadas entre os grupos podem ser atribuídas aos reflexos do sistema de reprodução, no genoma como um todo.

- d) A magnitude da depressão por endogamia, observada para *C. legalis*, foi alta para todos os caracteres, atingindo valores superiores a 20%, 68%, 63% e 90% para os caracteres forma do fuste, DAP, altura e volume cilíndrico, respectivamente.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à técnica de laboratório Elza Martins Ferraz e aos estagiários Fernanda Gosser Brasso e Gabriel Bortoleto Bichuette pelo auxílio nas eletroforeses de isoenzimas; ao técnico em agropecuária Gelson Dias Fernandes, ao estudante de engenharia florestal Márcio Fedele (ESALQ/USP) e ao Biólogo Fernando Schimth pelo auxílio nos trabalhos de campo. Também agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de doutoramento ao primeiro autor e à FAPESP pelo financiamento do projeto (nº 1998/2448-7).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, S. A. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.
- ALLARD, R. W. Princípios do melhoramento genético das plantas. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- BEIGUELMAN, B. Curso prático de bioestatística. Ribeirão Preto: SBG, 1996. 242 p.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review Ecology and Systematic*, Davis, v. 18, p. 237-268, 1987.
- CROW, J. F.; KIMURA, M. A. An introduction to population genetics theory. London: Harper & Row Publishers, 1970. 591 p.
- CROW, J. F. Mutation, mean fitness and genetic load. *Oxford Survival Evolutive Biology*, Oxford, v. 9, p. 3-42, 1993.
- DUREL, C. E.; BERTIN, P.; KREMER, A. Relationship between inbreeding depression and inbreeding coefficient in Maritime Pine (*Pinus pinaster*). *Theoretical Applied and Genetic*, Berlin, v. 92, p. 341-350, 1990.

- FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics.** Harlow: Longman Group Ltd, 1997. 463 p.
- FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva.** Ribeirão Preto: SBG, 1992. 646 p.
- GEBUREK, T. Some results of inbreeding depression in Serbian Spruce [*Picea omorica* (Panc.) Purk.]. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 35, p. 169-172, 1986.
- GRIFFIN, A. R.; COTTERILL, P. P. Genetic variation in growth of outcrossed, selfed and open-pollinated progenies of *Eucalyptus regnans* and some implications for breeding strategy. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 37, p. 124-131, 1988.
- HARDNER, C. M.; POTTS, B. M. Inbreeding depression and changes in variation after selfing in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 44, n. 1, p. 46-54, 1995.
- HARDNER, C. M.; POTTS, B. M. Postdispersal selection following mixed mating in *Eucalyptus regnans*. *Evolution*, San Francisco, v. 51, n. 1, p. 103-111, 1997.
- KÄRKKÄINEN, K.; SAVOLAINEN, O. The degree of early inbreeding depression determines the selfing rate at the seed stage: Model and results from *Pinus sylvestris* (Scots pine). *Heredity*, Lund, v. 71, p. 160-166, 1993.
- _____.; KOSKI, V.; SAVOLAINEN, O. Geographical variation in the inbreeding depression of Scots pine. *Evolution*, San Francisco, v. 50, n. 1, p. 111-119, 1996.
- KOELEWIJN, H. P. Effects of different levels of inbreeding on progeny fitness in *Plantago coronopus*. *Evolution*, San Francisco, v. 52, n. 3, p. 692-702, 1998.
- _____.; KOSKI, V.; SAVOLAINEN, O. Magnitude and timing of inbreeding depression in Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.). *Evolution*, San Francisco, v. 53, n. 3, p. 758-768, 1999.
- LANDE, R.; SCHEMESKE, D. W.; SCHULTZ, S. T. High inbreeding depression, selective interference among loci, and the threshold selfing rate for purging recessive lethal mutations. *Evolution*, San Francisco, v. 48, n. 4, p. 965-978, 1994.
- LEDIG, F. T.; GURIES, R. P.; BONEFELD, B. A. The relation of growth to heterozygosity in pitch pine. *Evolution*, San Francisco, v. 37, p. 1227-1238, 1983.
- LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis: version 1.0(d12) for Windows.** Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 89 p.
- LIBBY, W. J.; McCUTCHAN, B. G.; MILLAR, C. I. Inbreeding depression in selfs of Redwood. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 30, p. 15-25, 1981.
- MATHER, W. B. **Princípios de genética quantitativa.** Ribeirão Preto: SBG, 1994. 137 p.
- MATHESON, A. C.; WHITE, T. L.; POWEL, G. R. Effects of inbreeding on growth, stem form and rust resistance in *Pinus elliottii*. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 44, n. 1, p. 37-46, 1995.
- MITTON, J. B.; GRANT, M. C. Observation on the ecology and evolution of quaking aspen, *Populus tremuloides*, in the Colorado Front Range. *American Journal of Botany*, Oklahoma, v. 67, p. 1040-1045, 1980.
- MITTON, J. B. Physiological and demographic variation associated with allozyme variation. In: **ISOZYMES in plant biology.** London: Chapman and Hall, 1989. p. 127-145.
- MURAWSKI, D. A.; BAWA, K. S. Genetic structure and mating system of *Stemonoporus oblongifolius* (Dipterocarpaceae) in Sri Lanka. *American Journal of Botany*, Oklahoma, v. 81, n. 2, p. 155-160, 1994.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *Journal of Heredity*, Cary, v. 83, n. 6, p. 401-404, 1992.
- MURAWSKI, D. A. *et al.* Mating system of two Bombacaceous trees of a Neotropical Moist Forest. *Oecologia*, Berlin, v. 82, p. 501-506, 1990.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding National Academy of Science, USA*, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.
- _____. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, Washington, v. 89, p. 538-590, 1978.
- REMINGTON, D. L.; O'MALLEY, D. M. Evaluation of major genetic loci contributing to inbreeding depression for survival and early growth in a selfed family of *Pinus taeda*. *Evolution*, San Francisco, v. 54, n. 5, p. 1580-1589, 2000.

SEBBENN, A. M. *et al.* Depressão por endogamia em populações de jequitibá-rosa.

RESENDE, M. D. V.; HIGA, A. R. Estimção de valores genéticos no melhoramento de *Eucalyptus*: seleção em um carácter com base em informações do indivíduo e seus parentes. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, n. 28/29, p. 11-36, 1994.

RITLAND, K. Inferring the genetic basis of inbreeding depression in plants. **Genome**, Ottawa, v. 39, p. 1-8, 1996.

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

SEBBENN, A. M. Estudo de populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze, por caracteres quantitativos e isoenzimas. 2001. 209 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: Implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 32, 2001. (No prelo).

SNIEZKO, R. A.; ZOBEL, B. J. Seedling height and diameter variation of various degrees of inbred and outcross progenies of Loblolly Pine. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 50-60, 1988.

SORENSEN, F. C.; MILES, R. Inbreeding depression in height, height growth and survival of Douglas-Fr, Ponderosa Pine, and Noble Fir to 10 years of age. **Forest Science**, Bethesda, v. 28, n. 2, p. 283-292, 1982.

_____. Self-pollinization effects on Douglas-fir and Ponderosa pine seeds and seedlings. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, n. 5, p. 135-138, 1974.

SORENSEN, F. C. Effects of sib mating and wind pollination on nursery seedling size, growth components, and phenology of Douglas-Fir seed-orchard progenies. **Canadian Journal Forest Research**, Edmonton, v. 27, p. 557-566, 1997.

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

WEIR, B. S. **Genetic data analysis. II. Methods for discrete population genetic data**. Sunderland: North Caroline State University, Sinauer Associates Inc. Pub., 1996. 445 p.

WILCOX, M. D. Inbreeding depression and genetic variances estimated from self and cross-pollinated families of *Pinus radiata*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 32, p. 89-96, 1983.

WU, H. X.; MATHESON, A. C.; SPENCER, D. Inbreeding in *Pinus radiata*. 1. The effect of inbreeding on growth, survival and variance. **Theoretical and Applied Genetic**, Berlin, v. 97, p. 1256-1268, 1998.