

Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal

Mating system in two *Euterpe edulis* M. natural populations under different forest fragmentation conditions

Carlos Eduardo Sícoli Seoane
Alexandre Magno Sebbenn
Paulo Yoshio Kageyama

RESUMO: O sistema de reprodução de uma população contínua e uma fragmentada de *Euterpe edulis* Martius foi investigado no estado do Rio de Janeiro baseados nos modelos misto de reprodução e o modelo de cruzamentos correlacionados, usando seis locos microssatélites polimórficos. Foram detectadas diferenças significativas entre o conjunto gênico de óvulos e pólen, em ambas as populações, sugerindo desvios de cruzamentos aleatórios. A taxa de cruzamento multiloco (t_m) foi de 0,936 e 0,905 na população fragmentada e na contínua, respectivamente, mostrando que a espécie é predominantemente alógama. As diferenças entre as estimativas das taxas de cruzamento multiloco e uniloco ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$) foram positivas e estatisticamente significativas em ambas as populações (0,100 e 0,169 na população fragmentada e na contínua, respectivamente), indicando prováveis cruzamentos entre parentes e estrutura genética espacial intrapopulacional. Ambas as populações exibiram significante variação na taxa de cruzamento individual, com correlação de autofecundação dentro de progênes de $\hat{r}_s = 0,692$ na população fragmentada e $\hat{r}_s = 0,509$ na contínua. A correlação de paternidade foi moderada e significativamente diferente de zero nas duas populações ($\hat{r}_p = 0,106$ na população fragmentada e $\hat{r}_p = 0,221$ na contínua). O coeficiente médio de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) dentro de progênes foi maior do que o esperado em progênes de meios-irmãos, 0,125 (0,193 e 0,222 na população fragmentada e contínua) e o tamanho efetivo de variância (N_{ef}) médio entre progênes foi menor do que esperado em uma população idealizada, 4 (2,59 na população fragmentada e 2,25 na contínua). Nas populações amostradas, não foram observados indícios que a fragmentação florestal tenha interferido no sistema de reprodução da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Palmeira tropical, Endogamia, Coancestria, Tamanho efetivo de variância, Fragmentação florestal

ABSTRACT: The mating system in a fragmented and a continuum population of *Euterpe edulis* Martius in Rio de Janeiro State was investigated based on the mixed mating system model and correlated mating model, using six polymorphic microsatellite loci. Significant differences between ovule and pollen pools were detected in some loci in both populations, suggesting deviations from random mating. Multilocus outcrossing rate (t_m) was 0.936 and 0.905 in the fragmented and in the continuous populations, respectively, showing the species is predominantly allogamous. Differences between multilocus and single-locus outcrossing rates ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$) were positive and statistically significant in both populations (0.100 and 0.169, in the fragmented and in the continuous populations, respectively), suggesting mating among relatives and probable intrapopulacional spatial genetic structure. Both population exhibited significant variation of individual tree outcrossing rate, with the correlation of selfing within progeny arrays of $\hat{r}_s = 0,692$ in the fragmented population and $\hat{r}_s = 0,509$ in the continuous population. Correlations of outcrossed paternity were moderately and significantly greater than zero ($\hat{r}_p = 0,106$ in the fragmented population and $\hat{r}_p = 0,221$ in the continuous popula-

tion). Average coefficient of coancestry ($\hat{\theta}_{xy}$) within families was high than expected in half-sib families, 0.125 (0.193 in the fragmented population and 0.222 in the continuous population) and the variance effective size (N_{efv}) means among families was low than expected in idealized population, 4 (2.59 in the fragmented population and 2.25 in the continuous population). Results showing that the forest fragmentation interferes in the mating system of the species were not observed.

KEYWORDS: Tropical palm, Inbreeding, Coancestry, Variance effective size, Forest fragmentation

INTRODUÇÃO

O modo de reprodução de uma espécie tem implicações nas taxas de endogamia e grau de parentesco das futuras gerações, já que tem um papel importante na determinação da constituição dos conjuntos genotípicos, na extensão em que os genes são trocados entre indivíduos e nas taxas de emigração e imigração. Também pode ter um efeito na dinâmica de estruturação genética populacional, na heterogeneidade espacial dentro das populações e no grau em que as populações podem ser geneticamente subdivididas em decorrência da seleção e da deriva genética (HAMRICK e SCHNABEL, 1985; WICKNESWARI *et al.*, 2000). Brown (1979), Hamrick e Godt (1989) e Reis (1996), entre outros, revisaram os trabalhos disponíveis até então e demonstraram que as espécies de fecundação cruzada, portanto, com um maior potencial de movimentação de genes, são tipicamente caracterizadas por altas taxas de diversidade intrapopulacional e baixa diversidade entre populações e entre subdivisões populacionais.

A redução das florestas e a fragmentação florestal são duas das principais ameaças às populações naturais de espécies arbóreas tropicais (HEYWOOD *et al.*, 1994; YOUNG e BOYLE, 2000). Vários estudos detectaram que a redução do habitat natural e subsequente isolamento espacial das populações têm conseqüências negativas sob o sucesso reprodutivo e o fluxo gênico das espécies arbóreas tropicais (McCAULEY, 1995; NASON e HAMRICK, 1997; SEOANE *et al.*, 2000). Isto pode levar à redução da variabilidade genética e ao aumento de efeitos deletérios da endogamia nas progênes, resultante na depressão por endogamia, especialmente no caso de espécies com reprodução por fecundação predominantemente cruzada (CHARLESWORTH e CHARLESWORTH, 1987; ELLSTRAND, 1992; ELLSTRAND e ELLAN, 1993). Além do mais, evidências empíricas mostram que a fragmentação

florestal afeta negativamente a reprodução das plantas ao reduzir as atividades de polinização, dispersão de pólen e as resultantes formações de frutos e sementes (AIZER e FEISINGER, 1994; CUNNINGHAM, 2000; CASCANTE *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2003). Estudos de genética de populações indicam que as progênes de populações fragmentadas são as mais propensas a terem sido geradas por autofecundação ou polinizadas por poucos indivíduos (HALL *et al.*, 1996; ALDRICH e HAMRICK, 1998; SEOANE *et al.*, 2000; CASCANTE *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2003). O cruzamento entre indivíduos parentes e autofecundações causa redução na heterozigosidade e aumento na expressão de alelos recessivos deletérios. Estas mudanças na distribuição genotípica, que produzem depressão endogâmica, foram apontadas como responsáveis pela diminuição na produção de sementes viáveis, redução de crescimento e vigor das plântulas e minimização da sobrevivência em espécies arbóreas (BURGESS *et al.*, 1996; WICKNESWARI *et al.*, 2000). Em contraste, altos níveis de fluxo gênico entre populações fragmentadas foram propostos como uma atenuante para a perda de diversidade genética por deriva genética, tendo como resultado populações fragmentadas que preservam uma alta proporção da variabilidade genética das populações originais (WHITE *et al.*, 1999).

Euterpe edulis Martius é uma palmeira tropical comum da floresta Atlântica brasileira, entre as latitudes 15°S (BA) a 29°45'S (RS), encontrada também na Argentina e Paraguai. O palmito é seu principal produto de exploração. Suas flores são hermafroditas e a floração é anual e sazonal. A antese masculina libera todo o pólen em apenas um dia e a antese feminina mantém seu estigma receptivo por pelo menos dois dias. Existem relatos de protandria acentuada na espécie, com a abertura das flores femininas ocorrendo em torno de sete dias depois do final da floração masculina (MANTOVANI e MORELLATO, 2000). Tais fato-

res, aparentemente, dificultam a autofecundação e favorecem a reprodução cruzada, embora Mantovani e Morellato (2000) afirmem que, apesar da protandria, a autofecundação pode ocorrer em indivíduos que emitem duas ou mais inflorescências, ou se houver sobreposição da fase masculina e feminina entre as inflorescências.

A polinização é realizada por uma grande quantidade e variedade de insetos, destacando-se entre eles: moscas (Diptera), vespas, abelhas, antoforídeos e halictídeos (Hymenoptera), besouros (Coleoptera) e borboletas (Lepidoptera) (REIS *et al.*, 1993; MANTOVANI, 1998). Reis *et al.* (1993) destacam *Trigona spinipes* como um dos mais importantes insetos polinizadores. Mantovani (1998) afirma que a polinização pelo vento (anemofilia), provavelmente também desempenhe algum papel na polinização da espécie.

Estudos preliminares do sistema de reprodução indicaram a espécie como predominantemente de cruzamento (REIS, 1996; GAIOTTO *et al.*, 2003; CONTE, 2004), embora os cruzamentos tenham sido detectados como não aleatórios, evidenciando peculiaridades no processo reprodutivo da espécie, associadas, possivelmente, à amplitude do período de florescimento. Por exemplo, Gaiotto *et al.* (2003) detectou alta correlação de paternidade ($>0,71$), em populações do Distrito Federal. Conte (2004), por sua vez, estudando um população de São Pedro de Alcântara, estado de Santa Catarina, detectou correlação de paternidade de 0,103, indicando que aproximadamente 10% das progênes de cruzamento eram irmãos-completos.

Este estudo teve por objetivo avaliar o sistema de reprodução de duas populações de *E. edulis*, com base em seis locos microssatélites polimórficos. As duas populações encontram-se em fragmentos florestais sob distintas condições de fragmentação florestal: a hipótese é que o sistema de cruzamento de *E. edulis* na população localizada na floresta contínua seja semelhante ao encontrado para outras populações da espécie já estudadas, situadas em populações contínuas. No entanto, espera-se que o processo de fragmentação florestal influencie o sistema de reprodução de *E. edulis* na população localizada no fragmento florestal, reduzindo o tamanho efetivo de variância devido ao aumento na taxa de autofecundação, cruzamento entre indivíduos aparentados e cruzamentos biparentais.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

O estudo foi realizado em duas populações de *E. edulis* da floresta Atlântica da região meridional do Estado do Rio de Janeiro, uma localizada em um fragmento florestal e outra em uma floresta contínua. A distância entre as duas populações é de aproximadamente 66 km. A população do fragmento florestal (população fragmentada) situa-se nas coordenadas 22° 50'S e 42° 53' W, em área de 1.160 hectares, em uma elevação litorânea denominada Serra do Macaco, município de Maricá, RJ, na região conhecida como Região dos Lagos. Esse fragmento está isolado de outros por pelo menos 700 m, inserido em um mosaico de pequenos sítios com matas em regeneração e pastos dominados por capim-colômbio (*Panicum maximum*). Segundo o relato de habitantes locais, havia florestas com populações de *E. edulis* nos locais onde hoje se encontram estes pequenos sítios. As serras desta localidade são tombadas como parte da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro (IEF e IBAMA, 1994). O fragmento florestal apresentava indivíduos adultos somente no local onde foi feita a amostragem e em um outro local distante em cerca de 200 m. A área ocupada pela população não era superior a 2 há e foi estimada a presença de 240 indivíduos adultos reprodutivos neste fragmento.

A população da floresta contínua (população contínua) situa-se nas coordenadas 22° 24'S e 42° 31' W, em um fragmento florestal maior, de aproximadamente 25.900 hectares, na localidade de Macaé de Cima, município de Nova Friburgo, RJ. A população estudada encontra-se em uma propriedade particular, denominada Sítio do Sr. Glin. O fragmento florestal é contíguo a outros fragmentos, separados por estradas, que na somatória perfazem um total de cerca de 150.000 hectares, formando o que se pode considerar uma floresta contínua na porção Central da Serra do Mar do estado do Rio de Janeiro. Além das estradas não pavimentadas, encontram-se inseridos nesta floresta contínua sítios com pequenas lavouras e casas de veraneio. Segundo relato de habitantes, na população amostrada nunca houve uma extração significativa de palmito nem redução das florestas que a cercam. Legalmente o local integra a Reserva Ecológica de Macaé de Cima, de aproximadamente 7.200 hectares (LIMA *et al.*, 1999). Nesse fragmento é comum a presen-

ça de indivíduos adultos em toda a sua extensão. Foi estimada a presença de 1.315.360 indivíduos adultos no fragmento, em uma densidade de 189 indivíduos adultos por hectare.

Amostragem

Foram coletados frutos em seis plantas maternas aleatórias na população fragmentada e em nove árvores na população contínua. A coleta foi em plantas maternas distantes entre si em pelo menos 30 m, para evitar coletar frutos de indivíduos possivelmente parentes. De cada planta materna foram coletados frutos suficientes para se obter pelo menos 20 plântulas. Também foram amostrados aleatoriamente tecidos foliares de 34 e 43 indivíduos adultos da população fragmentada e contínua, respectivamente. As sementes foram germinadas e 10 plântulas de cada planta materna (progênes) e mais os indivíduos adultos, incluindo as plantas maternas, foram genotipadas para seis locos microssatélites: EE05, EE15, EE23, EE45, EE48 e EE54. Estes locos foram desenvolvidos por Gaiotto *et al.* (2001).

Análise de microssatélites (SSRs)

Tecidos foliares tiveram seu DNA extraído, segundo a metodologia proposta por Ferreira e Grattapaglia (1996), adaptada por Gaiotto *et al.* (2001). O procedimento para a quantificação do DNA é o mesmo descrito em Gaiotto *et al.* (2001). Para a amplificação das amostras em PCR, utilizaram-se 3 µl da amostra adicionados de 1,34 µl de H₂O, 1,3 µl de Tp10x, 1,3 µl de dNTP (2,5mM), 1,3 µl de BSA (2,5 mg/ml), 4,3 µl de Primer (0,9µM) e 0,2 µl de Taq polimerase (5v/µl). O programa utilizado para a amplificação foi o denominado micro 56: 96° C por 2 minutos, 30 ciclos de 94° C por um minuto, temperatura específica de anelamento do primer por um minuto, 72 ° C por um minuto, 72 ° C por sete minutos. Três µl das amostras amplificadas foram colocadas para migrar, por cerca de uma hora, em um gel de poliacrilamida 4% pré-aquecido e com corrente testada, contendo 8 M de uréia por cerca de uma hora. Em cada gel foram aplicadas cerca de 90 amostras. Na etapa da coloração foi utilizado o protocolo, adaptado de Ferreira e Gattapaglia (1996): *fix-stop* (formamida) por 20 minutos, três banhos de água por dois minutos, banho em nitrato de prata por 30 minutos, banho em água por 10 segundos, banho em revelador por até sete minutos, banho em *fix-stop* por cinco minutos e em água por cinco minutos.

Os géis eram interpretados depois de secos e escaneados. As temperaturas de anelamento dos primers foram as seguintes: EE05: 56°C; EE15: 56°C; EE23: 58°C; EE45: 56°C; EE48: 64°C; EE54: 56°C., de acordo com Gaiotto *et al.* (2001).

Análise estatística

O sistema de reprodução das populações de *E. edulis* foi analisado com base no modelo de cruzamentos mistos de Ritland e Jain (1981), e modelo de cruzamentos correlacionados de Ritland (1989), usando o programa Multiloco MLTR (RITLAND, 1994). Foram estimadas a taxa populacional de cruzamento multiloco (\hat{t}_m), pelo método de máxima verossimilhança (Algoritmo EM, Expectation-Maximization), a taxa populacional de cruzamento uniloco (\hat{t}_s), a taxa populacional de cruzamento entre aparentados ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$), as frequências alélicas dos óvulos e do pólen (o e p), a correlação de autofecundação (\hat{r}_s) e a correlação de paternidade (\hat{r}_p). O modelo de cruzamento misto de Ritland e Jain (1981) assume que as progênes resultam de uma mistura de cruzamentos aleatórios e autofecundação, cujas pressuposições básicas são: i) a probabilidade de um indivíduo qualquer da população cruzar independe de seu genótipo; ii) os alelos de diferentes locos segregam independentemente; iii) o conjunto de pólen é homogêneo para o cruzamento com qualquer genótipo da população; vi) ausência de seleção entre o período de fertilização e a avaliação dos marcadores genéticos. O desvio padrão da média dos parâmetros foi estimado por reamostragem *bootstrap*, usando 500 reamostragens, sendo as progênes a unidade de reamostragem. O desvio padrão foi utilizado para estimar o intervalo de confiança do erro a 95% de probabilidade.

O teste de cruzamentos aleatórios foi realizado pelo teste de homogeneidade das frequências alélicas dos óvulos e do pólen, usando a estatística F_{ST} (WRIGHT, 1965), como uma medida de divergência genética entre frequências alélicas dos dois grupos. Para testar se o valor estimado de \hat{F}_{ST} , para cada loco, era significativamente diferente de zero, usou-se o teste de qui-quadrado $\chi^2 = 2n \hat{F}_{ST}(k-1)$, GL = $(k-1)(s-1)$, proposto por Workman e Niswander (1970), em que: n = é o número de gametas nos dois grupos (pólen e óvulos), k = número de alelos e s = número de grupos (2 - pólen e óvulo).

O índice de fixação e os respectivos intervalos de confiança para progênes (F_p) e individu-

os adultos (F_a) foram estimados segundo Weir (1996), usando 10.000 reamostragens bootstrap e o programa GDA (LEWIS e ZAYKIN, 1999). O índice de fixação em equilíbrio de endogamia (F_e) foi estimado da taxa de cruzamento multiloco por,

$$\hat{F}_e = \frac{1 - \hat{t}_m}{1 + \hat{t}_m} \quad (\text{LI, 1976}).$$

O coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies (θ_{xy}) foi estimado do coeficiente de correlação de parentesco entre plantas dentro de progênies (r_{xy}), proposto por Ritland (1989), $\hat{r}_{xy} = 0,25(1 + \hat{F}_a)[4\hat{s} + (\hat{t}_m^2 + \hat{t}_m \hat{s} \hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)]$, em que, \hat{s} é a taxa de autofecundação ($\hat{s} = 1 - \hat{t}_m$). Os demais parâmetros já foram previamente definidos. Como em espécies diplóides o coeficiente de coancestria é a metade do coeficiente r_{xy} ($\hat{\theta}_{xy} = \hat{r}_{xy} / 2$ - LYNCH e WALSH, 1998), tem-se que, $\hat{\theta}_{xy} = 0,125(1 + \hat{F}_a)[4\hat{s} + (\hat{t}_m^2 + \hat{t}_m \hat{s} \hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)]$.

O tamanho efetivo de variância foi estimado de acordo com Cockerham (1969) por,

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

em que, n é o número total de plantas avaliadas por progênies (10).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Freqüências alélicas

Foram observados indícios de diferenças entre as freqüências alélicas dos óvulos e pólen em dois locos (EE05; EE15) na população fragmentada e em três (EE05; EE23; EE48) na população contínua (Tabela 1). Em todos os casos, a estatística qui-quadrado mostrou que as freqüências alélicas de óvulos e pólen cruzados diferiram ao nível de 1% de probabilidade. As causas dos desvios podem estar associadas a diferenças relativas entre as funções masculinas e femininas das plantas, imigração de pólen de outras populações, seleção entre a período de polinização e a amostragem das progênies, assincronismo no florescimento das árvores, cruzamentos entre aparentados ou, mais provavelmente, devido a cruzamentos correlacionados. Outra causa pode ser o pequeno tamanho amostral adotado, seis progênies na população fragmentada e nove na população contínua. Efeitos da fragmentação florestal sobre as freqüências alélicas não foram detectados.

Taxa de cruzamento

As estimativas da taxa de cruzamento multiloco (\hat{t}_m) foram de $0,936 \pm 0,032$ e $0,905 \pm 0,011$ e as uniloco (\hat{t}_s) de $0,836 \pm 0,024$ e $0,736 \pm 0,020$, para a população fragmentada e contínua, respectivamente (Tabela 2), indicando o sistema misto de reprodução com predomínio de fecundação cruzada para *E. edulis*. Este resultado confirma aqueles encontrados para a espécie em outras regiões (REIS *et al.*, 2000; GAIOTTO *et al.*, 2003; CONTE, 2004), assim como os resultados encontrados para as espécies arbóreas tropicais (MURAWSKI *et al.*, 1994; SEBBENN *et al.*, 2000; SEOANE *et al.*, 2001).

A diferença entre a estimativa da taxa de cruzamento multiloco e uniloco ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$) foi positiva e significativa em ambas as populações (Tabela 2), sugerindo a ocorrência de 10% e 16,9% de cruzamentos entre indivíduos parentes, nas populações fragmentada e contínua, respectivamente, e a provável existência de estruturação genética espacial dentro das populações. Cruzamentos entre indivíduos parentes são relatados em outros estudos do sistema de reprodução de *E. edulis*. Por exemplo, Reis *et al.* (2000), estudando sete locos isoenzimáticos em sete populações naturais de *E. edulis* nos estados de Santa Catarina e São Paulo, observaram diferenças positivas entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco em cinco das sete populações. Conte (2004), usando locos microsatélites, também observou indícios de cruzamento entre indivíduos parentes ($\hat{t}_m - \hat{t}_s = 0,067 \pm 0,017$) em uma população do estado de Santa Catarina. Contudo, Gaiotto *et al.*, (2003), avaliando duas populações no Distrito Federal observaram indícios de cruzamento entre indivíduos parentes em apenas uma das populações ($\hat{t}_m - \hat{t}_s = 0,04 \pm 0,04$), embora a estimativa não tenha sido significativa. Os resultados aqui obtidos, juntamente com os de Reis *et al.* (2000), Gaiotto *et al.* (2003) e Conte (2004) sugerem que a diversidade genética das populações de *E. edulis* é, muitas vezes, estruturada em grupos de famílias e que certos níveis de endogamia biparental podem ser esperados em populações naturais. O longo ciclo de vida, a alta densidade populacional e a dispersão de pólen e sementes em maior proporção nas vizinhanças da árvore de origem devem ser as causas da estruturação genética espacial e dos cruzamentos entre parentes.

Tabela 1.

Freqüências alélicas, divergência genética (\hat{F}_{ST}) entre pólen e óvulos, tamanho amostral (n) e teste de qui-quadrado (χ^2) para duas populações de *E. edulis*.

(Allele frequencies, genetic divergence (\hat{F}_{ST}) between ovule and pollen pool, sample size (n), and chi-square test for two *E. edulis* populations)

Loco	Alelo	População Fragmentada					População Contínua				
		Pólen	Óvulos	\hat{F}_{ST}	n	χ^2	Pólen	Óvulos	\hat{F}_{ST}	n	χ^2
EE05	1	0,606	0,833				0,557	0,722			
	2	0,089	0				0,331	0,167			
	3	0,022	0				0,014	0,056			
	4	0,089	0				0,029	0,056			
	5	0,022	0				0,042	0			
	6	0,067	0				0,028	0			
	7	0,061	0,167				0	0			
	8	0,044	0	0,046	48	31,17**(7)	0	0	0,028	82	23,09**(4)
EE15	1	0,112	0				0,077	0,056			
	2	0,025	0,083				0,087	0,056			
	3	0,195	0,083				0,154	0,167			
	4	0,090	0,083				0,232	0,333			
	5	0,368	0,583				0,071	0,056			
	6	0,025	0,083				0,242	0,222			
	7	0,157	0				0,085	0			
	8	0,027	0,083	0,036	47	23,89**(7)	0,051	0,111	0,007	64	6,35 (7)
EE23	1	0,062	0,083				0,143	0			
	2	0,179	0,167				0,078	0,333			
	3	0,066	0,083				0,165	0,222			
	4	0,103	0				0,200	0,222			
	5	0,591	0,667				0,104	0,056			
	6	0	0				0,032	0,056			
	7	0	0				0,118	0,056			
	8	0	0	0,008	52	3,20 (4)	0,161	0,056	0,032	73	32,42**(7)
EE45	1	0,020	0,167				0,187	0,278			
	2	0,120	0				0,122	0,111			
	3	0,070	0,167				0,039	0			
	4	0,187	0,167				0,127	0,056			
	5	0,377	0,333				0,175	0,111			
	6	0,140	0,083				0,086	0,167			
	7	0,020	0				0,047	0,167			
	8	0,065	0,083	0,016	54	12,25 (7)	0,218	0,111	0,015	56	11,89 (7)
EE48	1	0,062	0,167				0,532	0,722			
	2	0,123	0,083				0,082	0			
	3	0,100	0,167				0,197	0			
	4	0,079	0				0,086	0,111			
	5	0	0,083				0,051	0,056			
	6	0	0,083				0,036	0,056			
	7	0,132	0,083				0	0,056			
	8	0,505	0,333	0,023	41	12,94 (7)	0,016	0	0,037	50	25,97**(6)
EE54	1	0,297	0,417				0,116	0,056			
	2	0,086	0,083				0,025	0,056			
	3	0,038	0				0,095	0,056			
	4	0,077	0				0,658	0,611			
	5	0	0,083				0,053	0,056			
	6	0,463	0,417				0,054	0,111			
	7	0,038	0	0,012	26	3,76 (7)	0	0,056	0,006	70	5,39 (6)

() = graus de liberdade.

Tabela 2.

Parâmetros de endogamia, parentesco e sistema de reprodução em duas populações de *E. edulis*. Inbreeding, relatedness and mating system parameters in two *E. edulis* populations.

Parâmetros	Estimativa	
	Fragmentada	Contínua
Índice de fixação da população adulta - F_a	0,213 [0,068 a 0,355]	0,239 [0,133 a 0,337]
Índice de fixação das progênes - F_p	0,175 [0,026 a 0,314]	0,234 [0,067 a 0,360]
Endogamia em equilíbrio de endogamia - F_e	0,033	0,050
Taxa de cruzamento multiloco - t_m	0,936 (0,032)	0,905 (0,011)
Taxa de cruzamento uniloco - t_s	0,836 (0,024)	0,736 (0,020)
Endogamia biparental - $t_m - t_s$	0,100 (0,015)	0,169 (0,012)
Correlação de autofecundação - r_s	0,692 (0,059)	0,509 (0,041)
Correlação de paternidade - r_p	0,106 (0,013)	0,221 (0,022)
Número efetivo de polinizadores - $1/r_p$	9,4	4,5
Coancestria dentro de progênes - θ_{xy}	0,193	0,222
Tamanho efetivo de variância - N_e	2,59	2,25

() Erro padrão da média; [] Intervalo de confiança a 95%.

Cruzamentos entre indivíduos parentes em populações naturais têm sido relatados em diversos estudos do sistema de reprodução de espécies arbóreas tropicais (MURASWIKI *et al.*, 1994; LEE *et al.*, 2000; SEBBENN *et al.*, 2000; SEOANE *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2003), sugerindo que a estruturação genética intrapopulacional possa ser um padrão comum das espécies arbóreas tropicais. A estruturação tem implicações tanto na coleta de sementes para reflorestamentos como para programas de melhoramento, conservação genética *ex situ* e exploração florestal. Para espécies comuns, com alta densidade demográfica local, a coleta de sementes para esses fins, deve ser realizada em árvores separadas por pelo menos 100 metros ou duas vezes a altura das árvores (ELDRIDGE *et al.*, 1993), para evitar coletar sementes de árvores parentes. Contudo, isto não evita que sementes endogâmicas, advindas de cruzamentos entre indivíduos parentes (endogamia biparental), sejam incluídas na amostra. O cruzamento entre parentes gera endogamia nas progênes (sementes) igual ao coeficiente de coancestria entre os genitores (LINDGREN *et al.*, 1996). Por exemplo, se a coancestria em uma vizinhança genética for igual ao de meios irmãos (0,125) e esses indivíduos cruzarem entre si, o coeficiente de endogamia nas progênes será igual a 0,125. Este exemplo demonstra que, em populações estruturadas, as sementes conterão sempre uma pequena taxa de endogamia, o que implica na redução do tamanho efetivo de variância, retido na descendência e na necessidade de modelos biométricos específicos

para avaliação da herança de caracteres quantitativos, em programas de melhoramento florestal (SEBBENN, 2002).

Esperava-se que houvesse uma maior taxa de cruzamento entre parentes na população fragmentada, quando comparada àquela ocorrente na floresta contínua, devido ao número muito menor de indivíduos adultos reprodutivos no fragmento florestal em relação à floresta contínua, apesar da densidade local de plantas ser semelhante nas duas populações amostradas. No entanto, foi detectada maior taxa de cruzamento entre indivíduos parentes na população contínua; deve-se notar que o coeficiente de endogamia nos adultos da população contínua é maior que os da fragmentada, o que poderia explicar as diferenças entre as duas populações quanto aos resultados para a taxa de cruzamento entre parentes na formação das progênes. Pelos resultados obtidos para a taxa de cruzamento entre parentes, pode-se inferir que a polinização ocorre entre indivíduos não muito distantes entre si, já que a presença de um número muito maior de indivíduos adultos no fragmento como um todo não parece ser um fator que influencie nas taxas de cruzamento.

Coeficiente de endogamia

A estimativa do índice de fixação detectou endogamia significativa em ambas as gerações (árvores adultas e progênes). O índice de fixação nas árvores adultas (F_a) foi de 0,213 e 0,239 para a população fragmentada e contínua, respectivamente, sendo estes resultados não estatística-

mente diferentes entre si. Para as progênies, o índice de fixação (F_p) foi de 0,175 e 0,234 para a população fragmentada e contínua, respectivamente, sendo a diferença entre estes resultados não significativa. Todos os valores estimados foram altos e estatisticamente diferentes de zero, a julgar pelo intervalo de confiança a 95% de probabilidade, indicando a presença de endogamia em ambas as populações e gerações. Estudos comparando a estimativa do índice de fixação entre gerações têm relatado maior endogamia nas progênies do que a observada na geração adulta. Reis *et al.* (2000) observaram seleção a favor de heterozigotos (heterose), com índice de fixação positivo nas progênies e negativo nos adultos de *E. edulis*. Os autores afirmam que este fenômeno deva ser um componente importante da dinâmica demográfica da endogamia entre gerações de *E. edulis*. Conte (2004) detectou seleção contra homozigotos, entre a geração adulta e suas progênies, em várias populações sob diferentes condições de antropização, com base em marcadores isoenzimáticos. Os resultados aqui obtidos, por sua vez, sugerem a existência de equilíbrio de endogamia, com valores do índice de fixação similares entre as gerações.

As estimativas da taxa de cruzamento multiloco foram significativamente diferentes de 1,0 e a diferença entre as estimativas da taxa de cruzamento multiloco e uniloco ($\hat{t}_m - \hat{t}_s$), foi positiva e significativamente diferente de zero em ambas as populações, dando a entender que a endogamia observada nas progênies foi gerada tanto por autofecundação como por cruzamentos entre parentes. Assumindo o equilíbrio de endogamia, a endogamia esperada (F_e) a partir das taxas de autofecundações ($s = 1 - \hat{t}_m$) nas populações fragmentada e contínua é de 0,033 e 0,05, respectivamente (Tabela 2). Portanto, 19% [(0,033/0,175)x100] da endogamia observada nas progênies da população fragmentada (0,175) e 21% [(0,05/0,234)x100] da observada na contínua (0,234) podem ser explicados pela taxa de autofecundação e o restante pelos cruzamentos entre parentes ($t_m - t_s$). Considerando que a endogamia nas progênies é igual à coancestria entre os parentais cruzados (LINDGREN *et al.*, 1996) e subtraindo-se a endogamia estimada em equilíbrio de endogamia (F_e) da endogamia observada nas progênies (F_p), obtém-se a endogamia gerada por cruzamentos entre aparentados, que no caso corresponde aos valores de 0,142 e 0,184 para as populações fragmentada e contínua, respec-

tivamente. Portanto, a coancestria média entre os parentais que deram origem às progênies em ambas as populações deve estar entre o grau de meios-irmãos (0,125) a irmãos-completos (0,25).

Cruzamentos correlacionados

A estimativa da correlação de autofecundação (\hat{r}_s) revelou significativa variação na taxa de cruzamento entre plantas nas populações ($\hat{r}_s = 0,692 \pm 0,059$ e $\hat{r}_s = 0,509 \pm 0,041$ para fragmentada e para a contínua, respectivamente) (Tabela 2). Significativas correlações de autofecundações ou variações na taxa de cruzamento individual podem ser indicativos da existência de variações na auto-incompatibilidade entre plantas. Essas variações têm sido relatadas em *Shorea congestiflora* (MURAWSKI *et al.*, 1994) e *Eucalyptus globulus* (PATTERSON *et al.*, 2001). Entretanto, outros fatores, como populações estruturadas em famílias e assincronismo no florescimento, podem contribuir ou causar para a ocorrência de variações na taxa de cruzamento individual.

As estimativas da correlação de paternidade (Tabela 2) foram altas e significativamente diferentes de zero nas populações: $\hat{r}_p = 0,206 \pm 0,013$ (fragmentada) e $\hat{r}_p = 0,221 \pm 0,022$ (contínua), sugerindo que a maior parte das progênies de cruzamento são aparentadas no grau de irmãos-completos. Em concordância, a estimativa do coeficiente médio de coancestria ($\hat{\theta}_{sp}$) dentro de progênies foi próxima à esperada em progênies de irmãos-completos (0,25) para ambas as populações (0,193 e 0,222, para a fragmentada e para a contínua, respectivamente), sugerindo que as populações de *E. edulis* estão se regenerando por misturas de irmãos de autofecundação, meios-irmãos e irmãos-completos. Isto explica a alta taxa detectada de cruzamento entre indivíduos parentes nas populações e a estimativa das proporções dos diferentes tipos de progênies confirma este resultado.

Altas correlações de paternidade em progênies de polinização aberta de *E. edulis* também foram relatadas por Gaiotto *et al.* (2003) em duas populações do Distrito Federal, com valores de 0,71 e 0,73. Por outro lado, Conte (2004) detectou baixa correlação de paternidade (0,103) em uma população do Estado de Santa Catarina. Altas correlações de paternidade em progênies de polinização aberta de espécies arbóreas tropicais também têm sido observadas em diversos outros estudos. Seoane *et al.* (2001) estudando por isoenzimas progênies de polinização livre de

Esenbeckia leiocarpa, detectaram correlações de paternidade de $0,749 \pm 0,080$ e $0,986 \pm 0,037$, em duas populações fragmentadas do sudeste brasileiro. Souza *et al.* (2003), estudando por isoenzimas progênies de *Chorisia speciosa* em uma população, encontraram alta e significativa correlação de paternidade ($\hat{r}_p = 0,875 \pm 0,063$). Alves *et al.*, (2003), estudando progênies de polinização aberta de *Teobroma grandiflorum*, detectaram \hat{r}_p de 0,930 em uma população da Amazônia oriental.

Altas e significativas correlações de paternidade implicam que o número de polinizadores efetivos é restrito (RITLAND, 1989). Assumindo que a polinização ocorre dentro das vizinhanças de uma árvore materna, que todas as árvores vizinhas têm a mesma probabilidade de polinizar uma determinada árvore e que a polinização decorre de visitas independentes dos vetores de polinização, determina-se que o número médio de polinizadores efetivos por árvore foi de 10 ($1/\hat{r}_p = 1/0,106$) na população fragmentada e 5 ($1/0,222$) na contínua. A causa da correlação de paternidade em *E. edulis* pode estar associada ao assincronismo no florescimento e comportamento do polinizador visitando de forma sistemática árvores próximas. É interessante notar que o número de polinizadores efetivos por árvores foi o dobro na população fragmentada. Possivelmente, a alta densidade de plantas adultas reprodutivas em populações contínuas faça com que os vetores de polinização forrageiem predominantemente e sistematicamente entre árvores próximas, diferente de populações fragmentadas onde os mesmos têm que visitar maior número de plantas para obter o recurso procurado, ainda mais considerando a competição por recursos entre esses vetores.

Implicações para conservação e melhoramento genético

Os desvios de cruzamentos aleatórios observados na população contínua, a taxa significativa de autofecundação e a alta correlação de paternidade, observada em ambas as populações, têm implicações na conservação e no melhoramento genético de *E. edulis*. A reprodução parcial por autofecundação, associada à correlação de paternidade implica no aumento da coancestria dentro de progênies e na necessidade de se reter maiores tamanhos amostrais para a conservação *ex situ*, do que seriam necessários, caso as populações fossem perfeitamente panmíticas (populações infinitas, de cruzamentos aleatórios

e sem endogamia e parentesco). Por exemplo, a coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) estimada dentro de progênies foi alta e superior à esperada em progênies de meios-irmãos (0,125) em ambas as populações; e a estimativa do tamanho efetivo de variância de uma única progênie foi de 2,59 e 2,25, na população fragmentada e na contínua, respectivamente. Em uma progênie de tamanho infinito, originada de populações panmíticas, o \hat{N}_{efv} pode assumir seu valor máximo, quatro. Assim, tamanho efetivo estimado foi aproximadamente 35% [$1-(2,59/4)$] e 44% [$1-(2,25/4)$] menor do que o esperado se as populações fragmentada e contínua, respectivamente, fossem perfeitamente panmíticas. Em termos práticos, isto implica que se o objetivo fosse, por exemplo, reter o tamanho efetivo de 150, ao invés de coletar sementes em apenas 38 árvores ($150/4$), seria necessária a coleta em 58 ($150/2,59$) e 67 ($150/2,25$) árvores nas populações fragmentada (Serrado Macaco) e contínua (Macaé de Cima), respectivamente.

Não foram observados indícios de que a fragmentação florestal afete o sistema de reprodução da espécie. No entanto, estudos realizados nestas e em outras populações de *E. edulis* indicam que a fragmentação florestal influencia na dinâmica metapopulacional e na dispersão de sementes. Além do mais, devem ser realizados outros estudos que comparem o sistema de reprodução desta espécie e de outras nas diferentes condições de fragmentação florestal, para assim ter um melhor entendimento dos seus efeitos sob o sistema reprodutivo da espécie.

CONCLUSÕES

- *E. edulis* é espécie de sistema misto de reprodução, combinando autofecundações e cruzamentos, com predomínio de cruzamentos. Partes dos cruzamentos ocorrem de forma não aleatória devido à ocorrência de cruzamentos entre indivíduos parentes e cruzamentos biparentais;
- Os resultados sugerem que os genótipos de *E. edulis* encontram-se espacialmente estruturados nas populações estudadas;
- As progênies de *E. edulis* nas populações e no evento reprodutivo avaliado são predominantemente aparentadas no grau de irmãos-completos;
- A determinação de tamanhos amostrais para a coleta de sementes de polinização aberta em populações naturais de *E. edulis*, para fins de conservação, melhoramento, recuperação ambiental

e reflorestamentos comerciais deve considerar os desvios de cruzamentos aleatórios observados nas populações;

- A fragmentação florestal não interferiu no sistema de reprodução da espécie.

AUTORES

Carlos Eduardo Sícoli Seoane é Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisas Florestais - Embrapa Florestas - Estrada do Ribeira, km 111 - Caixa Postal 319 - Colombo, PR - 83411-000 - E-mail: eduardo@cnpf.embrapa.br

Alexandre Magno Sebbenn é Pesquisador do Instituto Florestal de São Paulo - Caixa Postal 1322 - São Paulo, SP - 01059-970 - E-mail: alexandresebbenn@yahoo.com.br

Paulo Yoshio Kageyama é Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo - Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba, SP - 13418-900 - E-mail: kageyama@esalq.usp.br

REFERÊNCIAS

- AIZER, M.A.; FEISINGER, P. Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. **Ecology**, Ithaca, v. 75, p. 300-351, 1994.
- ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. Reproductive dominance of pastures trees in a fragmented tropical forest mosaic. **Science**, Washington, v. 281, p. 103-105, 1998.
- ALVES, R.M.; ARTERO, A.S.; SEBBENN, A.M.; FIGUEIRA, A. Mating system in natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Shumm. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 79, n. 2, p. 20-31. 2003.
- BROWN, A.H.D. Enzyme polymorphism in plant populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 15, p. 1-42, 1979.
- BURGESS, I.P.; WILLIAMS, E.R.; BELL, J.C.; HARWOOD, C.E.; OWEN, J.V. The effect of outcrossing rate on the growth of selected families of *Eucalyptus grandis*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, p. 97-100, 1996.
- CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, S.A.; FUCHS, E.J. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, Arlington, v. 16, p. 137-147, 2002.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 237-268, 1987.
- COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lancaster, v. 23, p. 72-84, 1969.
- CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites**. 2004. 210 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- CUNNINGHAM, S.A. Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. **Proceedings of the Royal Society**, London, v. 267, p. 1149-1152, 2000.
- ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; VAN WYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 288 p.
- ELLSTRAND, N.C. Gene flow of pollen: implication for plant conservation genetics. **Oikos**, Lund, v. 63, p. 77-86, 1992.
- ELLSTRAND, N.C.; ELAN, D.R. Population genetic consequences of small population sizes: implication for plant conservation. **Annual Review of Ecological Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 217-242, 1993.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1996. 220 p.
- FUCHS, E.J.; LOBO, J.A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, Arlington, v. 17, p. 149-157, 2003.
- GAIOTTO, F.A.; BRONDANI, R.P.V.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite markers for Heart of Palm - *Euterpe edulis* and *Euterpe oleraceae* Mar. (Arecaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 35, p. 294-301, 2001.
- GAIOTTO, F.A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOSKY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mar.). **Journal of Heredity**, Oxford, v. 94, n. 5, p. 399-406, 2003.
- HALL, P.; WALKER, S; BAWA, K.S. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in tropical tree, *Pithecelobium elegans*. **Conservation Biology**, Arlington, v. 10, n. 3, p. 757-768, 1996.
- HAMRICK J.L.; GODT, J.W. Allozyme diversity on plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.J.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S. (eds.) **Plant population genetics, breeding, and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p. 43-63.

- HAMRICK J.L.; SCHNABEL, A. Understanding the genetic structure of plant populations: some old problems and new approach. In: GREGORIUS, H.R. (ed.). **Population genetics in forestry**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 50-70.
- HEYWOOD, V.H.; MACE, G.M.; MAY, R.M.; STUART, S.N. Uncertainties in extinction rates. **Nature**, London, v. 368, p. 105, 1994.
- IEF - INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS; IBAMA. **Reserva da Biosfera da Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro (mapa)**. Rio de Janeiro, 1994.
- LEE, S.W.; WICKNESWARI, R.; MAHANI, M.C.; ZAKRI, A.H. Mating system parameters in a tropical tree species *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian lowland dipterocarp forest. **Biotropica**, Lawrence, v. 32, p. 693-702, 2000.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis: version 1.1 for Windows 95/NT**. 1999. Disponível em: <<http://www.lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/>>. Acesso em: 08 ago. 2004.
- LI, C.C. **First course in population genetics**. Pacific Grove: The Boxwood Press, 1976. 631 p.
- LIMA, H.; MORIM, M.P.; GUEDES-BRUNI, R.R. Estudos florísticos em Unidades de Conservação: a experiência do Jardim Botânico do Rio de Janeiro na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo, Rio de Janeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 50, 1999, Blumenau. **Anais...** Blumenau: Sociedade Botânica do Brasil, 1999. p. 306-307.
- LINDGREN, D.; GEA, L.; JEFFERSON, P. Loss of genetic diversity by status number. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, p. 52-59, 1996.
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 980 p.
- McCAULEY, D.E. Effects of population dynamics on genetics in mosaic landscapes. In: HANSSON, L.; FANGH, L.; MERRIAM, G. (eds.). **Mosaic landscapes and ecological processes**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 178-198.
- MANTOVANI, A. **Fenologia e aspectos da biologia floral de uma população de *Euterpe edulis* na Floresta Atlântica do Sul do Brasil**. 1998. 66 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1998.
- MANTOVANI, A.; MORELLATO, P. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmito. In: REIS, M.S.; REIS, A., (eds.). ***Euterpe edulis* Martius – Palmito: biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 23-38.
- MURAWSKI, D.A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K.S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forest. **Biotropica**, Lawrence, v. 26, n. 1, 23-29, 1994.
- NASON, J.D.; HAMRICK, J.L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two cases studies of neotropical canopy trees. **Journal of Heredity, Oxford**, v. 88, p. 264–276, 1997.
- PATTERSON, B.; VAILLANCOURT, R.E.; POTTS, B.M. Eucalypts seed collectors: beware of sampling seedlots from low in the canopy. **Australian Forestry**, Yarralumla, v. 64, n. 3, p. 139-142, 2001.
- REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmito (*Euterpe edulis* Martius)**. 1996. 210 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- REIS, M.S.; GUIMARÃES, E.; OLIVEIRA, G.P. Estudos preliminares da biologia reprodutiva do palmito (*Euterpe edulis*) em mata residual do Estado de São Paulo. In : CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. **Anais...** São Paulo: SBS / SBEF, 1993. p. 358-360.
- REIS, M.S.; KAGEYAMA, P.Y.; GUIMARÃES, E.; NODARI, R.O.; FANTINI, A.C.; MANTOVANI, A.; VENCOSKY, R. Variação genética em populações naturais de *Euterpe edulis* Martius na floresta ombrófila densa. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Eds.) ***Euterpe edulis* Martius (palmito): biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 131-149.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v. 43, n. 4: p. 848-859, 1989.
- RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR. Version 1.1**. Vancouver, 1994. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 08 ago. 2004.
- RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, London, v. 47, p. 35-52, 1981.
- SEBBENN, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 115-132, 2002.
- SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; ZANATTO, A.C.E. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: Implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 25-40, 2000.

SEOANE, C.E.S.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Efeitos da fragmentação florestal em populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 57, p. 123-139, 2000.

SEOANE, C.E.C.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 13, p. 19-26, 2001.

SOUZA, L.M.I.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Sistema de reprodução em *Chorisia speciosa*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, p. 113-121, 2003.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis: 2- Methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.

WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Genetic variation within fragmented populations of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, p. 1889-1909, 1999.

WICKNESWARI, R.; MAHANI, M.C.; ZAKRI, A.H. Mating systems parameters in a tropical tree species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), from Malaysian lowland dipterocarp forest. **Biotropica**, Lawrence, v. 40, p. 693–702, 2000.

WORKMAN, P.; NISWANDER, J.L. Population studies on southwestern Indian Tribes: 2- Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal Human Genetics**, Chicago, v. 22, p. 24-49, 1970.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, Lancaster, v. 19, p. 395-420, 1965.

YOUNG, A.G.; BOYLE, T.J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.G.; BOSHIER, D.; BOYLE, T.J. **Forest conservation genetics: principles and practice**. Canberra: Csiro Publishing, 2000. p. 123-134.