SCIENTIA
FORESTALIS

Sistema de reprodução, parentesco e tamanho efetivo em sementes de polinização livre de populações fragmentadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por análise de locos microssatélites

Mating System, Kinship and effective size in open-pollinated seeds of fragmented populations of *Copaifera langsdorffii* Desf., by analysis of microsatellite Loci

Ricardo de Oliveira Manoel[1], Laila Toniol Cardin[2], Juliana Prado Moreira[3], Érica Cristina Bueno da Silva[4], Sirlene do Nascimento Senna[4], Thaisa Yuriko Kuboyama Kubota[4], Miguel Luiz Menezes Freitas[5], Mário Luiz Teixeira de Moraes[6] e Alexandre Magno Sebbenn[5]

Resumo

Alterações antropogênicas na densidade populacional de indivíduos reprodutivos podem afetar o sistema de reprodução de árvores e resultar no aumento das taxas de autofecundação e cruzamentos correlacionados. Neste estudo, investigou-se o sistema de reprodução em populações fragmentadas da espécie arbórea neotropical polinizada por insetos *Copaifera langsdorffii*, utilizando-se oito locos microssatélites e o modelo misto de reprodução e modelo cruzamentos correlacionados. Para tanto, sementes de polinização aberta foram coletadas de 15 árvores localizadas em uma pequena população natural (4,8 ha), denominada de bosque e em 14 árvores de outras pequenas populações fragmentadas, na região noroeste do estado de São Paulo. Não foram detectadas diferenças significativas na taxa de cruzamento multiloco entre as árvores do bosque (t_m=0,933±0,028) e as árvores provenientes de outras populações (t_m=0,971±0,032), embora estas estimativas foram significantemente diferentes da unidade (1,0), sugerindo autofecundações. Foram detectadas altas taxas de cruzamentos entre parentes, nas árvores do bosque (t_m-t_s=0,478±0,05) e outras populações (t_m-t_s=0,475±0,018), sugerindo estruturação genética espacial intrapopulacional nos fragmentos. Foram também detectadas altas taxas de cruzamentos correlacionados nas amostras, indicando que grande parte das plântulas dentro de progênies são irmãos-completos. Em consequência das autofecundações, cruzamentos entre parentes e cruzamentos correlacionados, o coeficiente de coancestria dentro de progênies foi igualmente alto nas árvores do bosque (Θ=0,237) e nas árvores de outras populações (Θ=0,241) e o tamanho efetivo dentro de progênies menor do que o esperado em populações panmíticas (N_e<4). Os resultados foram discutidos, focando a amostragens de sementes em árvores matrizes para conservação genética e recuperação ambiental.

Palavras-chave: Cruzamentos endogâmicos, Copaíba, coancestria, cruzamentos correlacionados, taxas de cruzamento, espécies arbóreas tropicais.

Abstract

Anthropogenic changes in the reproductive population density can affect the mating system and result in an increase in selfing and correlated matings. This study investigated the mating system in small fragmented populations of the insect pollinated tropical tree species *Copaifera langsdorffii*, using microsatellite loci and the mixed and correlated mating models. Open-pollinated seeds were collected from 15 seed-trees located in a small forest fragment (4.8 ha), denominated "Bosque" and from 14 other seed-trees located in other

[1]Mestre em Agronomia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira / UNESP – Av. Brasil Centro, 56 – Caixa Postal: 31 - Ilha Solteira (SP), CEP 15.385-000. E-mail: rickom.is@gmail.com

[2]Pós-graduanda em Genética do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas/ UNESP – Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – São José do Rio Preto (SP), CEP 15.054-000. E-mail: lailinha_7@hotmail.com

[3]Pós-graduanda em Agronomia da Faculdade de Engenharia / UNESP – Av. Brasil Centro, 56 – Caixa Postal: 31 - Ilha Solteira (SP), CEP 15.385-000. E-mail: jjubileu@hotmail.com

[4]Graduanda em Ciências Biológicas da Faculdade de Engenharia / UNESP – Av. Brasil Centro, 56 – Caixa Postal: 31 - Ilha Solteira (SP), CEP 15.385-000. E-mail: erica_cbs@yahoo.com.br; sirlenesenna@hotmail.com; thaisayuriko@hotmail.com

[5]Pesquisador Doutor do Instituto Florestal de São Paulo - Estação Experimental de Tupi, Rodovia Luiz de Queiroz, Km 149,5, Tupi - Caixa-Postal: 339 - CEP13400-970 - Piracicaba, SP. E-mail: alexandresebbenn@yahoo.com.br; miguellmfreitas@yahoo.com.br

[6]Professor Adjunto, Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira /UNESP, - Av. Brasil Centro, 56 – Caixa Postal: 31 - Ilha Solteira (SP), CEP15.385-000. E-mail: teixeira@agr.feis.unesp.br

small forest fragments of the north-western region of São Paulo State. No significant differences were observed between the seed-trees from Bosque (t_m=0.933±0.028) and other fragments (t_m=0.971±0.032), although these estimates were significantly different from 1.0, suggesting that selfing was occurring. Differences between multilocus and unilocus outcrossing rate were significantly high in both seed-trees of Bosque (t_m-t_s=0.478±0.05) and other forest fragments (t_m-t_s=0.475±0.018), suggesting a spatial genetic structure in those stands. The results also showed high rates of correlated mating in the samples, indicating that a good part of the offspring were full-sibs. As a consequence of selfing, mating among relatives and correlated matings, the coancestry within families was equally high in the seed-trees of Bosque (Θ=0.237) and in the seed-trees of the other forest fragments (Θ=0.241) and the effective population size was lower than expected in panmitic populations (Ne<4). The results were discussed, focusing on the sample size of seed-trees to collect seeds for genetic conservation and enviromental reforestation.

Keywords: biparental inbreeding, Copaiba, coancestry, correlated mating, outcrossing rate, tropical tree species.

INTRODUÇÃO

As florestas tropicais em todo mundo estão sendo intensamente fragmentadas. As árvores, devido ao seu porte geralmente grande e vida longa são os principais componentes das florestas, criando condições ambientais para muitos outros organismos sobreviverem (RAJORA *et al.*, 2001). Entretanto, as espécies arbóreas tropicais são mais vulneráveis à fragmentação das florestas contínuas do que muitas espécies temperadas devido a sua densidade geralmente baixa, presença de sistemas de auto-incompatibilidade e alta taxa de cruzamento (CASCANTE *et al.*, 2002). Há fortes evidências na literatura que suportam a hipótese de que a perturbação antrópica pode afetar negativamente os padrões de reprodução em plantas (ECKERT *et al.*, 2009; LOWE *et al.*, 2005).

Processos antrópicos, tais como a fragmentação florestal podem reduzir a densidade de árvores reprodutivas e afetar o comportamento dos polinizadores e consequentemente, o sistema de reprodução e o fluxo de pólen entre e dentro das populações (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007; FUCHS *et al.*, 2003; MORAES; SEBBENN, 2011). A formulação de hipóteses, sobre o impacto da fragmentação florestal sob o sistema reprodutivo das populações de espécies arbóreas, é fundamental para compreender como os indivíduos isolados em fragmentos estão geneticamente isolados (MORAES; SEBBENN, 2011). Este conhecimento permite o desenvolvimento de estratégias para conservação e melhoramento das espécies. Isto é especialmente importante para as espécies arbóreas da floresta tropical rica em diversidade, como a floresta brasileira, onde a floresta natural tem sido intensamente convertida em pequenos fragmentos florestais e árvores isoladas na paisagem em campos e pastagens. É crucial para as futuras gerações, a conservação destas espécies arbóreas neotropicais, visto que destas poderá ser obtido algum fármaco, produto químico ou outro recurso que necessitem. Nesse ambiente particular, onde em um pequeno fragmento florestal pode continuar a ter um grande número de diferentes espécies arbóreas (>50), mas em geral com o tamanho das populações pequenas (<100 indivíduos), estratégias de conservação *ex situ* são necessárias. No entanto, para isso, é preciso coletar sementes dos indivíduos e uma questão importante, é de quantas árvores deve-se coletar sementes para fundar novas populações *ex situ* (bancos de germoplasma ou reflorestamentos ambientais). Como os níveis de diversidade genética, parentesco e tamanho efetivo da variância dentro de progênies de polinização aberta são determinados pelos padrões de reprodução, compreender esses padrões é fundamental para determinar corretamente onde e de que número de árvores matrizes deve ser coletado sementes para estes fins.

O sistema reprodutivo é um importante determinante da estrutura e diversidade genética das populações naturais, pois estabelece o padrão da união dos gametas para formar a próxima geração (LIENGSIRI *et al.*, 1999). Diversas variáveis ecológicas têm sido propostas como fatores que podem afetar os padrões de cruzamento em espécies arbóreas, por exemplo, o isolamento espacial (CASCANTE *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2003), fenologia de florescimento (ODDOU-MURATORIO *et al.*, 2006), densidade de plantas (FRANCESCHINELLI; BAWA, 2000; MURAWSKI; HAMRICK, 1991) e a atividade de polinizadores. Entre esses fatores, tanto o isolamento temporal (diferenças na fenologia da floração) quanto o isolamento espacial de floração (baixa densidade) têm sido propostas como causas das altas taxas de autofecundação de algumas espécies arbóreas (FUKUE *et al.*, 2007; MURAWSKI; HAMRICK, 1991).

Com a redução na densidade de plantas adultas espera-se um aumento no grau de isolamento espacial dos indivíduos e populações remanescentes, aumentando a autofecundação e cruzamentos correlacionados (AGUILAR *et al.*, 2008; FUCHS *et al.*, 2003; MORAES; SEBBENN, 2011). O aumento da autofecundação pelo isolamento espacial de populações e indivíduos pode resultar em endogamia nos descendentes e depressão por endogamia subsequente, que é mais grave na espécie predominantemente de fecundação cruzada (NASON; HAMRICK, 1997). O isolamento dos indivíduos pela fragmentação florestal pode reduzir a atividade dos polinizadores e aumentar a distância por recursos alimentares, sendo assim, muitos podem investir mais tempo de forrageamento dentro do mesmo indivíduo, aumentando a taxa de autofecundação e cruzamentos correlacionados (FUCHS *et al.*, 2003; QUESADA *et al.*, 2001). Estas hipóteses de maior taxa de autofecundação e cruzamentos correlacionados em árvores isoladas do que em árvores que ocorrem nos fragmentos florestais ou florestas contínuas tem implicação importante na coleta de sementes para planos de conservação e restauração ambiental.

O sistema reprodutivo das espécies arbóreas pode ser medido como a proporção de sementes que resultam de cruzamentos ou autofecundação (MURAWSKI; HAMRICK, 1991). Em sementes provindas de cruzamento, a reprodução pode ser medida como a proporção de sementes provenientes do mesmo doador de pólen (cruzamento correlacionado) ou de doadores de pólen diferentes. Marcadores genéticos têm sido utilizados de forma eficiente para elucidar a taxa de cruzamento (ou autofecundação) em um conjunto de progênies de polinização livre, permitindo a avaliação do produto final do ciclo de dispersão de pólen (ASHLEY, 2010). O sistema de reprodução em árvores tem sido em geral, estudado com base no modelo de sistema reprodutivo misto (RITLAND; JAIN, 1981) e no modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989). É importante determinar o número de árvores para coleta de sementes para saber a coancestria e o tamanho efetivo de variância dentro de progênies (SEBBENN, 2003).

Neste estudo, investigou-se o sistema de reprodução de uma pequena floresta fragmentada e de outras árvores localizadas em outras pequenas populações altamente fragmentadas da espécie arbórea neotropical *Copaifera langsdorffii*, utilizando oito locos microssatélites e os modelos de reprodução misto e correlacionados. Em termos de conservação e coleta de sementes, as seguintes perguntas foram acessadas para estes dois grupos de árvores: i) Qual o número de árvores matrizes para coleta de sementes das pequenas populações fragmentadas para fins de conservação e reflorestamentos ambientais ii) Há diferenças na sobrevivência de sementes coletadas no bosque e das árvores em outras pequenas populações fragmentadas?

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie estudada

A *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) é uma espécie arbórea semidecídua encontrada principalmente na Floresta Latifoliada da bacia do Paraná. Ocorre tanto em floresta primária como em formações secundárias, sendo característica das formações de transição do cerrado para Floresta Estacional Semidecidual (LORENZI, 2000). As copaíbas são árvores de crescimento lento, polinizadas por abelhas Apis melífera e Trigona sp, alcançam de 25 a 40 m de altura, 100 cm de diâmetro a altura do peito (DAP) e podem viver até 400 anos (CARVALHO, 2003). As folhas são alternadas, pecioladas e penuladas. Os frutos contêm uma semente ovóide envolvida por um arilo abundante e colorido (CORRÊA, 1984). A árvore é utilizada na arborização urbana e recuperação de áreas degradadas (LORENZI, 1992). No sudoeste do Brasil, especialmente no estado de São Paulo, as áreas de florestas naturais de sua ocorrência foram drasticamente reduzidas devido ao avanço das fronteiras agrícolas. Atualmente, a espécie é encontrada em alguns fragmentos florestais remanescentes, os quais estão isolados na paisagem.

Áreas de estudo e amostragem

O estudo foi conduzido no noroeste do estado de São Paulo (Figura 1). Parte do estudo foi conduzido no Bosque Municipal de São José do Rio Preto, o qual compreende 4,8 ha de floresta semidecídua, localizado nas imediações periféricas do município (Figura 1). A área é isolada por uma cerca de mais de três metros de altura, visto tratar-se de um parque de recreação urbano e hospedar o zoológico municipal. A área sofreu corte seletivo no passado e é rodeada por área urbana em sua maior extensão. A população de *C. langsdorffii* encontra-se distribuída por

toda a área e pode ser observado desde indivíduos regenerantes até indivíduos com grandes dimensões, atingindo próximo a 1m de diâmetro a altura do peito (DAP). Nessa área, foram coletadas sementes de polinização aberta de 15 árvores matrizes (22 a 25 sementes por matriz). A outra parte do estudo foi conduzido utilizando-se sementes de polinização aberta de 14 árvores (20 sementes por árvore) de *C. langsdorffii* de outras pequenas populações fragmentadas, ao longo das rodovias BR-153, Feliciano Salles Cunha e Euclides da Cunha. A paisagem da região é caracterizada por grandes extensões de pastagens e plantações de cana-de-açúcar com alguns poucos fragmentos pequenos.

Análise de microssatélites

Para os estudos, o material vegetal foi submetido à extração de DNA genômico total e a amplificação através de reações da polimerase em cadeia (PCR) de regiões de microssatélites utilizando oito *primers* SSR. A extração de DNA das plantas adultas de *C. langsdorffii* foi efetuada com base na metodologia de Doyle e Doyle (1990) modificada por Alzate-Marin *et al.* (2005), para *C. langsdorffii*. Os oito *primers* utilizados foram desenvolvidos por Ciampi *et al.* (2000). A amplificação e o processo de detecção dos oito locos microssatélites encontra-se descrito em detalhes em Sebbenn *et al.* (2011). Os oito locos microssatélites utilizados foram CL01, CL02, CL06, CL20, CL27, CL32, CL34 e CL37. Estes locos são todos microssatélites dinucleotideos simples.

Análise estatística

As analises do sistema de reprodução foram baseadas no modelo misto de reprodução (RITLAND; JAIN, 1981) e modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989) e as estimativas obtidas utilizando o programa "Multilocos MLTR" (RITLAND, 2002). As análises foram realizadas em nível de árvore matriz e em nível populacional, separadamente para as árvores do bosque e das outras pequenas populações. O método numérico utilizado foi de máxima verossimilhança EM (Maximization Expectation) em nível de árvores matrizes, devido ao pequeno tamanho amostral dentro de progênies (20 a 25 plântulas) e o Newton-Rapson em nível de populações, devido ao maior tamanho amostral (300 a 371 plântulas). Os parâmetros estimados foram à taxa de cruzamento multiloco (t_m), taxa de cruzamento uniloco (t_s), taxa de cruzamento entre aparentados (t_m-t_s), a correlação de autofecundação (r_s) e correlação multiloco de paternidade ($r_{p(m)}$). O intervalo de confiança das estimativas foi obtido por 1.000 reamostragens *bootstraps*. As unidades de reamostragem foram às progênies na análise populacional e plantas dentro de progênies nas análises individuais por progênie. Estes parâmetros foram utilizados para estimar outros parâmetros demográficos e genéticos, como: número efetivo de árvores efetivamente polinizadoras ($\hat{N}_{ep}=1/\hat{r}_{p(m)}$) e o coeficiente médio de coancestria (Θ) entre plantas dentro de progênies, calculado pela seguinte expressão: $\Theta=0.125(1+\hat{F}_p)[4s+(\hat{t}_m+\hat{s}\hat{t}_m\hat{r}_s)(1+\hat{r}_p)]$ (RITLAND, 1989). Desta coancestria e do índice de fixação, foi estimado o tamanho efetivo populacional médio dentro de progênie ($N_{e(v)}$):

$$\hat{N}_{e(v)}=\frac{0,5}{[\hat{\Theta}_{xy}(\frac{n-1}{n})+\frac{1+\hat{F}_o}{2n}]}$$

Fonte: (COCKERHAM, 1969),

em que, n é o tamanho amostral. O número de árvores matrizes para a coleta de sementes foi calculado assumindo que o objetivo é reter na amostra total o tamanho efetivo de referência de 150, $\hat{m}=N_{e(referênciav)}/\hat{N}_{e(v)}$ (SEBBENN, 2003). É importante ressaltar que esta última estimativa é baseada em duas pressuposições: i) que as árvores matrizes não são parentes entre sí; ii) que as árvores matrizes recebem pólen de diferentes conjuntos gênicos, ou seja, não existe sobreposição no conjunto de pólen entre as diferentes árvores.

Os níveis de endogamia dentro das progênies foram estimados utilizando o índice de fixação (F_o) e o programa SPAGEDI 1.3 (HARDY; VEKEMANS, 2002). Para verificar se estes valores eram significativamente diferentes de zero, foi utilizado 1.000 permutações de alelos entre indivíduos.

Taxa de sobrevivência

Para avaliar a taxa de sobrevivência, todas as sementes obtidas foram semeadas. As sementes foram germinadas em viveiro separadamente por árvore matriz e a taxa de sobrevivência avaliada oito meses após a semeadura. A taxa de sobrevivência foi estimada dividindo o número de sementes sobreviventes pelo número total de sementes postas para germinar. Para verificar se existe alguma associação entre a sobrevivência e o índice de fixação e a taxa de autofecundação de cada progênie, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Este coeficiente de correlação foi estimado utilizando-se o programa SAS (SAS, 1999).

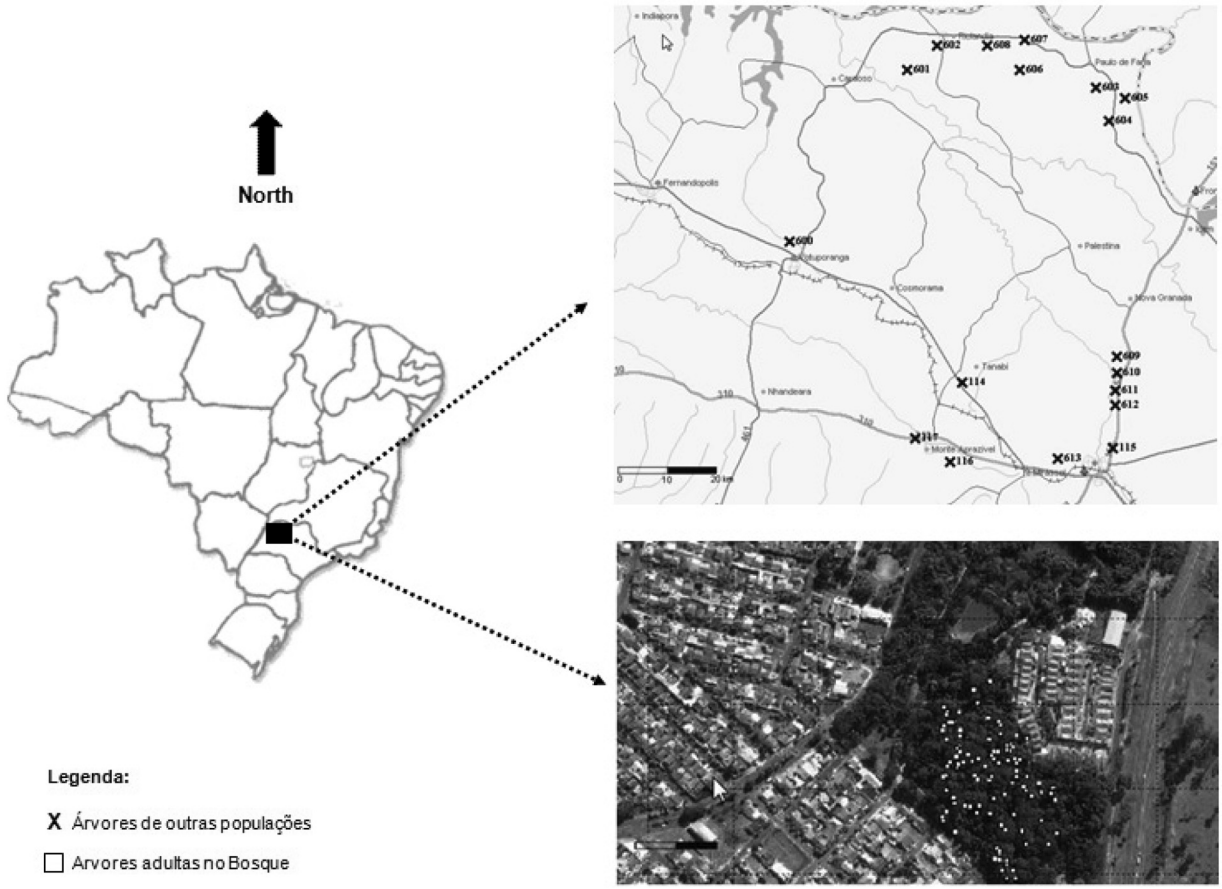

Figura 1. Distribuição espacial dos genótipos das árvores de outras populações nas beiras das rodovias e das árvores adultas de *Copaifera langsdorffii* no Bosque Municipal de São José do Rio Preto.

Figure 1. Spatial distribution of trees of other populations on the edges of highways and adult trees of the *Copaifera langsdorffii* in the Municipal Bosque of São José do Rio Preto.

RESULTADOS

Taxa de cruzamento

As estimativas da taxa de cruzamento multiloco no bosque (t_m=0,933) e nas árvores de outras populações (t_m=0,971) foram significativamente diferentes da unidade (1,0) (Tabela 1), sugerindo que ocorreram algumas autofecundações. A estimativa da taxa de cruzamento multiloco foi significativamente maior nas árvores de outras populações do que nas do bosque, de acordo com o intervalo de confiança do erro a 95% de probabilidade. A taxa de cruzamento uniloco foi também significativamente menor do que a unidade, tanto no bosque (t_s=0,455) como para as árvores de outras populações (t_s=0,497). Consequentemente, a diferença entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco, que mede a taxa de cruzamento entre parentes, foi alta e significativamente diferente de zero (mínimo de 0,475).

Tabela 1. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução na população (bosque) e árvores de outras populações de *Copaifera langsdorffii* Desf.

Table 1. Estimates of mating system parameters in the population (forest) and trees from others populations of *Copaifera langsdorffii* Desf.

Parâmetro	Bosque	Outras populações
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,933 (0,919-0,947)	0,971 (0,954-0,986)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,455 (0,429-0,481)	0,497 (0,478-0,519)
Taxa de cruzamento entre parentes: t_m-t_s	0,478 (0,453-0,503)	0,475 (0,466-0,484)
Correlação de autofecundação: r_s	0,182 (0,141-0,223)	0,307 (0,300-0,314)
Correlação multiloco de paternidade: $r_{p(m)}$	0,846 (0,814-0,878)	0,905 (0,871-0,930)
Número médio de árvores polinizadoras: N_{ep}	1,18 (1,14-1,23)	1,10 (1,08-1,15)
Coancestria média dentro de progênies: Θ	0,237 (0,234-0,240)	0,241 (0,235-0,246)
Tamanho efetivo de variância: $N_{e(v)}$	2,02 (2,00-2,04)	1,97 (1,93-2,01)
Número de matrizes: m	74 (73-75)	77 (75-78)

Sendo: m é o número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes visando reter o tamanho efetivo de 150.

Taxa de cruzamentos correlacionados

A correlação de autofecundação, que mede em termos práticos, a variação na taxa de cruzamento individual, foi baixa (máximo 0,307), mas significativamente diferente de zero em ambas as amostragens (Tabela 2). A taxa de cruzamento variou entre as árvores do bosque de 0,726 a 0,997 e nas árvores de outras populações de 0,705 a 0,998. Este resultado sugere que a espécie não é auto-incompatível. A correlação de paternidade média populacional foi próxima à unidade e significativamente diferente de zero, o que indica uma alta taxa de cruzamentos correlacionados em ambas as amostras (Tabela 2). Portanto, grande parte das sementes coletadas das árvores são irmãos-completos. Contudo, embora a correlação de paternidade tenha sido maior nas árvores de outras populações, ela não difere significativamente da estimativa obtida para o bosque. Em consequência disso, a coancestria e o tamanho efetivo dentro de progênies foram próximos aos valores esperados em progênies de irmãos-completos (Θ=0,25; $N_{e(v)}$ =2,0). Em virtude disto, para serem obtidas amostras de sementes com o tamanho efetivo de 150, foi determinada a necessidade de coletar-se sementes para fins de conservação genética, recuperação ambiental e melhoramento florestal de pelo menos 74 árvores do bosque e de 77 árvores de outras populações.

Tabela 2. Estimativa de parâmetros do sistema de reprodução em progênies de duas procedências de *Copaifera langsdorffii*. F_o é o índice de fixação estimado para as progênies; t_m é a taxa de cruzamento multilocos; t_m-t_s é a taxa de cruzamento entre parentes; $r_{p(m)}$ é a correlação multilocus de paternidade; N_{ep} é o número efetivo de pais polinizadores; Θ é a coancestria dentro de progênie; $N_{e(v)}$ é o tamanho efetivo da progênie; média ± erro padrão da média 95% de probabilidade.

Table 2. Estimates of mating system parameters in progenies from two sources of *Copaifera lansgsdorffii* Desf. F_o is the fixation index estimated in the families; t_m is the multilocus outcrossing rate; t_m-t_s is the outcrossing rate among relatives, $r_{p(m)}$ is the multilocus correlation of paternity; N_{ep} is the effective number of parents pollinators; Θ is the coancestry within progeny, $N_{e(v)}$ is the effective size of the progeny, mean ± standard error average 95% probability.

Progênie	F_o	t_m	t_m - t_s	$r_{p(m)}$	N_{ep}	Θ	$N_{e(v)}$
Bosque							
9	0,269 *	0,919±0,043	0,334±0,044	0,396± 0,027	2,53	0,188	2,63
10	0,268 *	0,919±0,020	0,406±0,021	0,850±0,014	1,18	0,236	2,12
13	0,222 *	0,997±0,002	0,396±0,016	0,491±0,042	2,04	0,187	2,64
16	0,452 *	0,997±0,002	0,471±0,010	0,909±0,012	1,10	0,239	2,09
21	0,419 *	0,997±0,002	0,179±0,007	0,868±0,018	1,15	0,234	2,13
34	0,261 *	0,997±0,002	0,527±0,013	0,897±0,005	1,11	0,237	2,10
38	0,387 *	0,997±0,002	0,589±0,009	0,900±0,010	1,11	0,238	2,10
54	0,317 *	0,995±0,002	0,466±0,012	0,756±0,022	1,32	0,220	2,26
64	0,404 *	0,997±0,002	0,464±0,014	0,851±0,016	1,18	0,231	2,15
65	0,388 *	0,997±0,002	0,213± 0,010	0,586±0,040	1,71	0,199	2,49
96	0,321 *	0,919±0,021	0,548±0,018	0,875±0,008	1,14	0,238	2,09
97	0,313 *	0,726±0,044	0,404±0,037	0,833±0,005	1,20	0,258	1,94
101	0,316 *	0,997±0,002	0,384±0,016	0,570±0,032	1,75	0,197	2,52
103	0,315 *	0,760±0,024	0,532±0,018	0,972±0,000	1,03	0,262	1,91
110	0,291 *	0,900±0,108	0,546±0,107	0,996±0,107	1,00	0,252	1,91
Outras populações							
600	0,301 *	0,998±0,000	0,613±0,016	0,927±0,011	1,08	0,241	1,97
602	0,285 *	0,949±0,021	0,581±0,019	0,951±0,000	1,05	0,245	1,94
604	0,110 *	0,998±0,000	0,356±0,014	0,969±0,000	1,03	0,246	1,93
605	0,186 *	0,998±0,000	0,388±0,018	0,817±0,024	1,22	0,227	2,08
607	0,195 *	0,998±0,000	0,443±0,020	0,591±0,038	1,69	0,199	2,34
609	0,178 *	0,998±0,000	0,449±0,015	0,919±0,011	1,09	0,240	1,98
611	0,223 *	0,998±0,000	0,434±0,015	0,942±0,004	1,06	0,243	1,96
612	0,305 *	0,705±0,086	0,358±0,078	0,910±0,004	1,10	0,266	1,80
614	0,272 *	0,949±0,021	0,511±0,017	0,910±0,008	1,10	0,241	1,97
615	0,267 *	0,998±0,000	0,395±0,021	0,622±0,030	1,61	0,203	2,30
617	0,136 *	0,998±0,000	0,321±0,021	0,845±0,021	1,18	0,231	2,05
618	0,172 *	0,998±0,000	0,395±0,012	0,828±0,030	1,21	0,229	2,06
620	0,203 *	0,997±0,000	0,464±0,013	0,959±0,000	1,04	0,245	1,94
621	0,173 *	0,998±0,000	0,371±0,012	0,959±0,001	1,04	0,245	1,94

* P< 0,05

Índice de fixação

O índice de fixação foi positivo e significativamente diferente de zero em todas as progênies (Tabela 2), sugerindo endogamia. Contudo, de acordo com o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, o índice de fixação médio estimado nas progênies do bosque (F_o=0,330, variando de 0,269 a 0,363) foi significativamente maior do que o estimado para a média das progênies das árvores de outras populações (F_o=0,215, variando de 0,182 a 0,247).

Taxa de sobrevivência e associações com o índice de fixação e taxa de autofecundação

A taxa de sobrevivência após oito meses da semeadura foi baixa, variou entre árvores matrizes do bosque de 14 a 60%, com média de 28%, e entre as árvores matrizes de outras populações de 24 a 89%, com média de 51% (Tabela 3). De acordo com o erro padrão da média a 95% de probabilidade, a taxa de sobrevivência foi significativamente maior nas árvores de outras populações do que nas árvores do bosque. O coeficiente de correlação de Sperman entre a sobrevivência e o índice de fixação não foi significativo nem entre as árvores do bosque (ρ=0,14, 13 graus de liberdade, P>0,05), nem entre as árvores de outras populações (ρ=0,12, 12 graus de liberdade, P>0,05). Da mesma forma não foi observada nenhuma associação entre a sobrevivência e a taxa de autofecundação no bosque (ρ=0,28, 13 graus de liberdade, P>0,05) e nas árvores de outras populações (ρ=0,15, 12 graus de liberdade, P>0,05).

DISCUSSÕES

Taxa de cruzamento

De acordo com as estimativas da taxa de cruzamento multilocus (t_m), *C. langsdorffii* é uma espécie predominantemente de cruzamento (Tabelas 1 e 2). Este resultado está de acordo com a taxa de cruzamento estimada para uma população da espécie a partir de locos de isoenzimas ($\hat{t}_m$=0,917, OLIVEIRA *et al.*, 2002). Cruzamentos favorecem a manutenção e ampliação da diversidade genética nas populações devido à recombinação de genótipos. Isso é altamente favorável à manutenção da viabilidade evolutiva das populações, pois a diversidade genética é a matéria-prima da evolução, bem como do melhoramento genético. Populações com alta diversidade genética são mais propícias à sobrevivência em circunstâncias de pressão seletiva natural, visto que esta última pode favorecer a sobrevivência dos genótipos mais adaptados e eliminar os menos adaptados às novas condições ambientais.

Estudos têm observado que a taxa de cruzamento pode ser afetada pela densidade de indivíduos reprodutivos e populações com menor densidade tendem a apresentar maior taxa de autofecundação do que populações de alta

Tabela 3. Taxa de sobrevivência individual por árvore matriz de *Copaifera langsdorffii*, originadas do Bosque e de outras populações aos oito meses após a semeadura em viveiro.
Table 3. Survival rate for *Copaifera langsdorffii* by individual seed tree derived from bosque and from other isolated population, eight months after sowing in nurseries.

Bosque			Outras populações		
Progênie	Nº sementes	% de sementes germinadas	Progênie	Nº sementes	% de sementes germinadas
9	192	25%	600	76	37%
10	110	24%	602	192	24%
13	192	45%	604	175	55%
16	178	60%	605	192	47%
21	191	32%	607	160	51%
34	72	32%	609	144	27%
38	192	14%	611	45	62%
54	150	29%	612	160	69%
64	152	17%	614	41	58%
65	192	27%	615	192	60%
96	192	17%	617	62	68%
97	176	19%	618	88	79%
101	192	30%	620	65	89%
103	192	31%	621	100	31%
110	192	22%			
Total	2565	28%		1692	51%
IC 95%		22 a 34%			41 a 61%

IC: intervalo de confiança do erro a 95% de probabilidade estimado entre progênies.

densidade (ECKERT *et al.*, 2009; FUKUE *et al.*, 2007; MORAES; SEBBENN, 2011; MURAWSKI; HAMRICK, 1991; MURAWSKI *et al.*, 1994). Uma das hipóteses deste estudo era a de que as árvores em outras pequenas populações apresentassem menor taxa de cruzamento dos que as árvores ocorrentes no bosque, devido a menor densidade local de indivíduos reprodutivo ou tamanho de vizinhança de polinização, o que poderia favorecer o aumento da taxa de autofecundação, como observado, por exemplo, na espécie arbórea tropical *Neobalanocarpus heimii* (NAITO *et al.*, 2005). Contudo, neste estudo o resultado obtido foi inesperado, visto que se acreditava que as árvores em outras populações tivessem maior taxa de autofecundação por, provavelmente, receberem a visita menos frequente de insetos polinizadores. Entretanto, isso não foi detectado e ambas as estimativas obtidas no bosque e nas árvores de outras populações foram altas e não significativamente diferentes entre sí. Uma possível explicação pode estar associada à depressão por endogamia, que pode ter eliminado grande parte das sementes originadas de autofecundação nas árvores de outras populações. A depressão por endogamia tem potencial para alterar a taxa de cruzamento entre o momento de fertilização e o momento de avaliação dos genótipos por marcadores moleculares. Este fenômeno foi descrito nas espécies arbóreas tropicais *Pseudobombax mungumba* (GRIBEL; GIBBS, 2002) e *Platypodium elegans* (HUFFORD; HAMRICK, 2003). Isso pode ter acontecido no presente caso, o que resultou no aumento e na ausência de diferenças na taxa de cruzamento entre ambas as amostras do bosque e das árvores de outras populações. Por exemplo, a taxa de sobrevivência após oito meses da semeadura das sementes foi de apenas 28% nas árvores do bosque e de 51% nas árvores de outras populações. Estas baixas taxas de sobrevivência podem ser o resultado da depressão por endogamia, eliminando parte das sementes advindas de autofecundação e cruzamento entre parentes. Isso explicaria a alta mortalidade em sementes coletadas no bosque, onde a presença de estrutura genética espacial foi empiricamente comprovada. Obviamente, esta hipótese pode explicar também a alta mortalidade observada nas demais árvores avaliadas nos outros fragmentos.

Taxa de cruzamento entre parentes

Um resultado interessante foi às altas taxas de cruzamentos entre parentes detectados nas árvores do bosque e nas árvores de outras populações. A alta taxa de cruzamento entre parentes no bosque era esperada, visto que a população apresenta forte estrutura genética espacial intrapopulacional (SEBBENN *et al.*, 2011), o que permite o cruzamento entre parentes, especialmente se o pólen for disperso à curtas distâncias. Possivelmente, as outras populações apresentam também estrutura genética, dado a similar alta taxa de cruzamento entre parentes. Uma explicação alternativa é a de que estes aparentes cruzamentos entre parentes são na realidade, autofecundações. Contudo, se isso for verdade, o mesmo poderia ser dito em relação às altas taxas de cruzamentos entre parentes nas árvores do bosque, embora, neste caso, a estrutura genética espacial previamente detectada nesta população (SEBBENN *et al.*, 2011) pode explicar os cruzamentos entre parentes.

Cruzamentos correlacionados

Outro resultado surpreendente foi às altas correlações de paternidade em ambas as árvores do bosque e das outras populações, especialmente pelo fato de que os frutos de *C. langsdorffii* contem apenas uma semente. Os resultados sugerem que apenas duas árvores efetivamente polinizaram cada uma das árvores matrizes amostradas, igualmente nas do bosque e nas outras populações. Altas correlações de paternidade têm sido observadas em algumas espécies arbóreas tropicais como *Jacaranda copaia* (r_p =0,780, JAMES *et al.*, 1998), *Stemmadenia donnell-smithii* (r_p =0,970, JAMES *et al.*, 1998), *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (r_p variando de 0,749 a 0,986, SEOANE *et al.*, 2001) e *Theobroma grandiflorum* (r_p =0,930, ALVES *et al.*, 2003). Contudo, em geral, em espécies com frutos que contem muitas sementes, a correlação de paternidade tem sido observada maior dentro de frutos do que entre frutos, como relatado em *Pachira quinata* (dentro de frutos - r_p =0,638, entre frutos - r_p = 0,252, dentro de frutos - r_p =0,990, entre frutos - r_p = 0,120, QUESADA *et al.*, 2001), *Samanea saman* (floresta contínua: dentro de frutos - r_p =0,990, entre frutos - r_p = 0,120; árvores isoladas: dentro de frutos - r_p =0,771, entre frutos - r_p = 0,027, CASCANTE *et al.*, 2002) e *Theobroma cacau* (dentro de frutos - r_p =0,607, entre frutos - r_p = 0,099, SILVA *et al.*, 2011). No presente estudo, devido a cada fruto conter apenas uma semente, era esperada uma baixa correlação de paternidade em ambas as árvores do bosque e de outras populações, embora em

especial nas do bosque pelo maior tamanho de vizinhança de polinização (número potencial de árvores polinizadoras). A surpreendente correlação de paternidade no bosque pode ter sido gerada por variação na fenologia de florescimento, associada a um pequeno número de árvores florescendo ao mesmo tempo. *C. langsdorffii* apresenta florescimento supra-anual e nem todas as árvores florescem todos os anos, o que pode ter causado este resultado.

Parentesco e tamanho efetivo dentro de progênies

O parentesco e o tamanho efetivo de variância dentro de progênies de polinização aberta são diretamente afetados pelo sistema de reprodução e estrutura genética espacial. Consequentemente, como o tamanho efetivo de variância afeta o número de árvores matrizes para a coleta de sementes, o sistema de reprodução também afeta este número. No presente estudo, devido às altas taxa de cruzamentos correlacionados e autofecundações foi observado que a coancestria e o tamanho efetivo das progênies foi similar para as progênies coletadas no bosque e nas árvores em outras populações, de modo que a estimativa do número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes, visando reter amostras de grupos de progênies com tamanho efetivo total de 150, foi igual para ambos os casos. Em suma, de acordo com estes resultados, independentemente se a coleta ocorrer no bosque ou em árvores nestas outras populações amostradas será necessário coletar sementes de 109 árvores matrizes. Este número é considerado alto, se comparado ao estimado em outros estudos com espécies arbóreas, como por exemplo, 31 árvores matrizes em uma população de *Araucaria angustifolia* (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007), 56 em *Hymenaea courbaril* (LACERDA *et al.*, 2008), 29 em *Myracrodruon urundeuva* (GAINO *et al.*, 2011) e 72 em *Hymenaea stigonocarpa* (MORAES; SEBBENN, 2011).

CONCLUSÃO

As estimativas dos parâmetros do sistema de reprodução em sementes de *C. langsdorffii* de polinização aberta coletadas nas árvores de outras populações e no bosque permitiram concluir que: i) A redução na densidade populacional, pelo isolamento espacial de árvores nas outras populações, não aumentou a taxa de autofecundação e taxa de cruzamentos correlacionados; ii) Sementes de *C. langsdorffii* coletadas de polinização aberta de árvores de outras populações tem mesmo grau de parentesco e endogamia que sementes coletadas de árvores matrizes que ocorrem agrupadas no bosque; iii) O número de árvores matrizes necessárias para a coleta de sementes foi igual para árvores de outras populações e ocorrentes agrupadas no bosque; iv) A sobrevivência é maior nas sementes coletadas de árvores de outras populações do que de árvores coletadas no bosque.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado financeiramente pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP/ número do processo: 2009/01943-0). O artigo faz parte da dissertação de mestrado de R.O.M. na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/ UNESP, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil. Gostaríamos de agradecer a Alexandre Marques da Silva e José Cambuim pela assistência na coleta das amostras, à Patrícia F. Alves, Cecília L. Dourado e Ana P. S.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, Oxford, v.17, n.24, p.5177-5188, 2008.

ALZATE-MARIN, A.L.; GUIDUGLI, M.; SORIANI, H.H.; MESTRINER, M.A. Otimização de um método econômico e rápido de extração de DNA para quatro espécies de árvores tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005, Águas de Lindóia. **Anais**...Águas de Lindóia: [s.n.], 2005. p.510. (CD-ROM).

ALVES, R.M.; SEBBENN, A.M.; ARTERO, A.S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA A. Mating system in natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Shumm. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.26, n.3, p.373-379, 2003.

ASHLEY, M.V. Plant parentage, pollination, and dispersal: How DNA microsatellites have altered the landscape. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v.29, n.3, p.148-161, 2010.

BITTENCOURT, J.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, London, v.99, n.6, p.580-591, 2007.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 1039p.

CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J.J.; FUCHS, E.A. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, Boston, v.16, n.1, p.137–147, 2002.

CIAMPI, A.Y.; BRONDANI, R.; GRATTAPAGLIA, D. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Copaifera langsdorffii* Desf. (Copaíba) - Leguminosae-Caesalpinioideae e otimização de sistemas fluorescentes de genotipagem multiloco**. Brasília: Embrapa, 2000. 40p. (Boletim de Pesquisa, 16).

COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lancaster, v.23, n.1, p.72-84, 1969.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1984. 770p.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rocklville, v.12, p.13-15, 1990.

ECKERT, C.G.; KALISZ, S.; GEBER, M.A.; SARGENT, R.; ELLE, E.; CHEPTOU, P.O.; GOODWILLIE, C.; JOHNSTON. M.O.; KELLY, J.K.; MOELLER, D.A.; PORCHER, E.; REE R.H.; VALLEJO-MARÍN, M.; WINN, A.A. Plant mating system in a changing world. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 25, n.1, p.35-43, 2009.

FRANCESCHINELLI, E.V.; BAWA, K.S. The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). **Heredity**, London, v.84, n.1, p116-123, 2000.

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**, Boston, v.17, n.1, p.149-157, 2003.

FUKUE, Y.; KADO, T.; LEE, S.L.; NG, K.K.S.; NORWATI, M.; TSUMURA, Y. Effects of flowering tree density on the mating system and gene flow in *Shorea leprosula* (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia. **Journal of Plant Research**, v.120, n.3, p.413-420, 2007.

GAINO, A.P.S.C.; SILVA, A.M.; MORAES, M.A.; ALVES, P.F.; MORAES, M.L.T.M.; FREITAS M.L.M.F.; SEBBENN, A.M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, New York, v.11, n.6, p.1631-1643, 2011.

GRIBEL, R.; GIBBS, P.E. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax mumgunba* (Bombaceae). **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.163, n.6, p.1035-1043, 2002.

HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDI: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.2, n.4, p.618-620, 2002.

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

JAMES, T.; VEGE, S.; ALDRICH, P. Mating systems of three tropical dry forest tree species. **Biotropica**, Washington, v.30, n.4, p.587-594, 1998.

LACERDA, A.B.; KANASHIRO, M; SEBBENN, A.M. Long-pollen movement and deviation of random mating in a low-density continuous population of *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, Washington, v.40, n.4, p.462-470, 2008.

LIENGSIRI, C.; BOYLE, T.J.B.; YEH, F.C. Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. J. **Heredity**, London, v.89, n.3, p.216-221, 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Intituto Plantarum, 2000. 168p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation, reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. **Heredity**, London, v.95, n.4, p.255-273, 2005.

MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Pollen dispersal between isolated trees in the brazilian savannah: A Case Study of the Neotropical Tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Washington, v.43, n.2, p.1-8, 2011.

MURAWSKI, D.A.; HAMRICK J.L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, London, v.67, n.2, p.167-174, 1991.

MURAWSKI, D.A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K.S. Outcrossing rates of two endemic Shorea species from Sri Lankan tropical rain forests. **Biotroplca**, Washington, v.26, n.1, p.23-29, 1994.

NAITO, Y.; KONUMA, A.; IWATA, Y.S.; SEIWA, K.; OKUDA, T.; LEE, S.L.; MUHAMMAD, N.; TSUMURA, Y. Selfing and inbreeding depression in seeds and seedlings of *Neobalanocarpus heimii* (Dipterocarpaceae). **Journal of Plant Research**, v.118, n.6, p.423-430, 2005.

NASON, J.D.; HAMRICK, J.L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. **Journal of Heredity**, Oxford, v.88, n.4, p.264-276, 1997.

OLIVEIRA, A.F.; CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.3, p.331-338, 2002.

ODDOU-MURATORIO, S.; KLEIN, E.K.; DEMESURE-MUSH, B.; AUSTERLITZ, F. Real-time patterns of pollen flow in the wild-service tree, *Sorbus torminalis* (Rosaceae). III. Mating patterns and the ecological maternal neighborhood. **American journal of Botany**, Columbus, v.93, p.1650-1659, 2006.

QUESADA, M.; FUCHS, E.; LOBO, J. Pollen load size, reproductive success and progeny kinship of natural pollinated flowers of the tropical dry forest tree, *Pachira quinta*. **American Journal of Botany**, Columbus, v.88, n.12, p.2113-2118, 2001.

RAJORA, O.P.; RAHMAN, M.H.; DAYANANDAN, S.; MOSSELER, A. Isolation, characterization, inheritance and linkage of microsatellite DNA markers in white spruce (*Picea glauca*) and their usefulness in other spruce species. **Molecular and General Genetics**, Berlin, v.264, n.6, p.871-882, 2001.

RITLAND, K. Estimation of gene frequency and heterozygosity from pooled samples. **Molecular Ecology**, Oxford, v.2, n.3, p.370-372, 2002.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lancaster, v.43, n.4, p.848-859, 1989.

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

SAS INSTITUTE. **SAS procedures guide: Version 8 (TSMO)**. Cary: SAS Institute, 1999.

SEBBENN, A.M. Número de populações para conservação genética *in situ* de espécies arbóreas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, n.1, p.45-51, 2003.

SEBBENN, A.M.; CARVALHO, A.C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, S.M.B.; GAINO, A.P.S.C.; SILVA, J.M.; JOLIVET, C.; MORAES, M.L.T. Low level of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, London, v.106, n.1, p.134-145, 2011.

SILVA, C.R.S.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; ERVEDOSA, F.R.; MOTA, J.W.S.; FIGUEIRA, A.; SEBBENN, A.M. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. **Heredity**, London, v.106, n.6, p.973-983, 2011.

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.

Recebido em 29/04/2011
Aceito para publicação em 09/02/2012