

ISSN 0103-2674



SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO FLORESTAL



REVISTA DO INSTITUTO FLORESTAL

Rev. Inst. Flor.	São Paulo	v. 16	n. 1	p. 1 - 81	jun. 2004
------------------	-----------	-------	------	-----------	-----------

SUMÁRIO/CONTENTS

	p.
Varição genética em procedências e progênes mexicanas de <i>Pinus maximinoi</i> . Genetic variation in Mexican provenances and progenies of <i>Pinus maximinoi</i> . Lígia de Castro ETTORI; Aida Sanae SATO; Jarbas Yukio SHIMIZU	1-9
Parâmetros genéticos e ganhos na seleção para produção de resina em <i>Pinus elliottii</i> var. <i>elliottii</i> , no sul do Estado de São Paulo. Genetic parameters and selection gains for oleoresin production in <i>Pinus elliottii</i> var. <i>elliottii</i> , in south of São Paulo State. Reinaldo Cardinali ROMANELLI; Alexandre Magno SEBBENN	11-23
Pteridófitas do Parque Estadual da Vassununga, Santa Rita do Passa Quatro (SP), Brasil. Glebas Capetinga Leste e Capetinga Oeste. Pteridophytes from Vassununga State Park, Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil. Glebas Capetinga Leste and Capetinga Oeste. Áurea Maria Therezinha COLLI; Alexandre SALINO; Sônia Aparecida de SOUZA; André Luís Teixeira de LUCCA; Rogéria Toler da SILVA	25-30
Fitossociologia e caracterização sucessional de um fragmento de mata ciliar, em Rio Claro/SP, como subsídio à recuperação da área. Phytossociology and successional characterization of the riparian forest fragment, at Rio Claro, São Paulo State, as subsidy to reforestation. Eliana CARDOSO-LEITE; Tiago Batista COURE; Raquel Gardenal OMETTO; Denise Cidade CAVALCANTI; Maria Inez PAGANI	31-41
Varição das dimensões dos elementos anatômicos da madeira de árvores de <i>Eucalyptus grandis</i> Hill ex Maiden aos sete anos. Variation of anatomical structure of wood of <i>Eucalyptus grandis</i> Hill ex Maiden with 7 years old. Finê Thomaz ROCHA; Sandra Monteiro Borges FLORSHEIM; Hilton Thadeu Zarate do COUTO	43-55
Herança genética e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas em <i>Esenbeckia leiocarpa</i> . Genetic inheritance and linkage disequilibrium in isozymes loci of <i>Esenbeckia leiocarpa</i> . Carlos Eduardo Sícole SEOANE; Alexandre Magno SEBBENN	57-63
Herança e ligação em locos de isoenzimas em <i>Genipa americana</i> L. Inheritance and linkage in isozymes loci of <i>Genipa americana</i> L. Alexandre Magno SEBBENN	65-72
Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de <i>Trema micrantha</i> . Inheritance and linkage disequilibrium in isozymes loci of <i>Trema micrantha</i> . Luciano Arruda RIBAS; Alexandre Magno SEBBENN	73-81

FITOSSOCIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO SUCESSIONAL DE UM FRAGMENTO DE MATA CILIAR, EM RIO CLARO/SP, COMO SUBSÍDIO À RECUPERAÇÃO DA ÁREA¹

Eliana CARDOSO-LEITE²
Tiago Batista COVRE³
Raquel Gardenal OMETTO³
Denise Cidade CAVALCANTI⁴
Maria Inez PAGANI⁵

RESUMO

As matas ciliares constituem áreas de preservação permanente (Brasil, 2004), mas mesmo assim vêm sendo destruídas intensamente pela ação do homem. O presente estudo apresenta o levantamento fitossociológico e a caracterização sucessional dos fragmentos remanescentes de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, Rio Claro, São Paulo, Brasil. Os dados fitossociológicos obtidos poderão subsidiar propostas de manejo para a área, como, por exemplo, o reflorestamento das áreas sem vegetação florestal, com espécies nativas de estádios sucessionais iniciais e finais.

Palavras-chave: fitossociologia; mata ciliar; manejo de recursos naturais.

ABSTRACT

The riparian forests are protected by the Brazilian Forest Code, but day after day they are more and more devastated, by human activities. The present study shows objective the phytosociological survey and successional characterization of the riparian forest fragments of the Jardim Bandeirantes Stream, Rio Claro, São Paulo, Brazil. From the phytosociological data, the management plan would be elaborated, such as forestation proposition with the native species of the initial and final successional stages.

Key words: phytosociology; aluvial seasonal semideciduos forest; ecology management.

1 INTRODUÇÃO

As áreas de vegetação nativa ao longo dos cursos d'água configuram Áreas de Preservação Permanente - APP onde a vegetação original deve ser mantida. Em cursos d'água com até 10 m de largura, essa faixa de proteção deve apresentar, no mínimo, 30 m de largura, e ao redor das nascentes, deve ter um raio de 50 m (Brasil, 2002, 2004).

As matas ciliares, também denominadas florestas ribeirinhas, definidas por Rodrigues (2001) como "florestas ocorrentes ao longo dos cursos d'água e no entorno das nascentes", são de vital importância na proteção de mananciais, controlando a chegada de nutrientes, sedimentos e a erosão das ribanceiras;

atuam na interceptação e absorção da radiação solar, contribuindo para a estabilidade térmica da água, determinando, assim, as características físicas, químicas e biológicas dos cursos d'água (Delitti, 1989). Devido à elevada frequência de alterações que ocorrem normalmente na zona ripária, a vegetação que ocupa esta zona (mata ciliar) deve, em geral, apresentar uma alta variação em termos de estrutura e distribuição espacial (Lima & Zakia, 2001).

Neste trabalho utilizou-se o termo mata ciliar com a interpretação dada por Rodrigues (2001) e como sinônimo da nomenclatura oficial (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 1992) para esta formação, ou seja, Floresta Estacional Semidecidual Aluvial.

(1) Projeto parcialmente financiado pelo FEHIDRO –Fundo Estadual de Recursos Hídricos e aceito para publicação em maio de 2004.

(2) Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Av. Tamekichi Takano, 5, Centro, 11900-000, Registro, SP, Brasil. E-mails: cardosoleite@registro.unesp.br, cardosoleite@yahoo.com.br

(3) Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" – UNESP, Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia, Campus de Rio Claro, Av. 24 A – 1515, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. (Estagiário)

(4) Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro, Av. 24 A – 1515, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil.

(5) Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro, Av. 24 A – 1515, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. E-mail: pagani@horizon.com.br

Trabalhos realizados em matas ciliares mostram que a similaridade entre áreas é muito baixa, revelando assim a grande diversidade florística destes ecossistemas. Rodrigues & Nave (2001) citam como alguns dos fatores determinantes dessa heterogeneidade o tamanho da faixa ciliar florestada, o estado de conservação desses remanescentes, o tipo vegetacional de origem dessa formação florestal ciliar, a matriz vegetacional onde a mesma está inserida e a heterogeneidade espacial das características físicas do ambiente. Os autores afirmam ainda, que apesar de constatada essa heterogeneidade, ela ainda é pouco estudada.

Do ponto de vista ecológico, as matas ciliares têm sido consideradas como corredores extremamente importantes para o movimento da fauna ao longo da paisagem, assim como para a dispersão vegetal (Lima & Zakia, 2001).

As matas ciliares têm sido alvo de intensa perturbação, especialmente quando situadas próximo aos centros urbanos, em função de fatores de degradação como desmatamento, despejo de esgoto doméstico e industrial, canalização e desvio dos riachos e córregos, erosões urbanas devido à intensa impermeabilização do solo que ocasiona aumento no escoamento superficial. Todos esses problemas estão presentes no município de Rio Claro (Zaine, 1996), onde se localiza a área de estudo.

O rápido aumento da população urbana tem levado as autoridades a criarem conjuntos habitacionais populares nas regiões periféricas das cidades. Devido à falta de planejamento ambiental, alguns desses conjuntos são construídos muito próximo aos corpos d'água, que acabam sujeitos à ação antrópica, como é o caso do córrego onde se realizou o presente trabalho. Na área a intervenção humana foi tão agressiva, que nos últimos anos foram necessárias várias obras de contenção de águas pluviais que provocavam enormes erosões às margens e no entorno do córrego.

Esse trabalho é parte de um projeto maior, denominado "Recomposição da Mata Ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes (Microbacia do Ribeirão Claro, Rio Claro-SP), e conscientização da população quanto ao uso de seus recursos naturais", que envolve a recomposição da mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes e o envolvimento da população através de trabalhos de educação ambiental nas escolas e bairros próximos.

O presente trabalho realizou o levantamento fitossociológico e a caracterização sucessional de dois fragmentos de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, em Rio Claro, SP, com o objetivo de subsidiar futuros projetos de recomposição da mata ciliar do mesmo córrego e de outros corpos d'água da região.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e Caracterização da Área

O trabalho foi realizado nos fragmentos remanescentes de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, que é um afluente do Ribeirão Claro, responsável pelo abastecimento de água de parte da cidade de Rio Claro. Esse córrego está localizado na região nordeste da cidade, entre as coordenadas 22°10' e 22°35'S e, 47°20' e 47°40'O, e sua área de preservação permanente (Brasil, 2002, 2004) possui aproximadamente 9 ha (FIGURA 1). A nascente e o início do córrego estão em área pública municipal, o restante do percurso faz limite ao sul com a Universidade Estadual Paulista - UNESP e a nordeste com a Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade - FEENA.

O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa (tropical com duas estações bem definidas), caracterizado por seca no inverno e temperatura média do mês mais quente acima de 22°C.

A área está localizada na província geomorfológica da Depressão Periférica, zona do Médio Corumbataí 1 (Ponçano *et al.*, 1981). Silva (1998), utilizando dados do levantamento pedológico semi-detalhado do Estado de São Paulo (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 1981), identificou e mapeou os solos de ocorrência na área de estudo como Latossolo vermelho amarelo e Podzólico vermelho amarelo.

Na região da Área de Preservação Ambiental - APA de Corumbataí, onde o município de Rio Claro está parcialmente inserido, predomina o relevo das cuestas (Pagano *et al.*, 1989). Na face leste das cuestas há predomínio de florestas estacionais decíduas, na face oeste, predomínio de cerrados com encaves de matas ciliares, existindo, ainda, a presença de florestas estacionais semidecíduas em áreas descontínuas, no geral onde ocorrem solos mais férteis (Pagano *et al.*, 1989).

Atualmente, dentro do município, se encontram poucos remanescentes de cobertura vegetal nativa. Segundo Zaine (1996) a floresta estacional se concentra na Fazenda São José, a nordeste da cidade de Rio Claro, e alguns remanescentes de mata ciliar podem ser encontrados ao longo do Ribeirão Cabeça, Rio Passa Cinco e no alto curso Ribeirão Claro. Segundo a autora manchas de cerrado inexistem em Rio Claro, estando presentes na região somente em Corumbataí, Analândia e Itirapina.

Na APP do Córrego do Jardim Bandeirantes, existem dois fragmentos de mata ciliar, inclusos na faixa de APP (FIGURA 1).

O primeiro e maior deles, com aproximadamente 1.200 m², está localizado na nascente (FIGURA 1), apresenta árvores de tamanhos variados e o solo encontra-se recoberto por camadas de serapilheira de espessura variável. O banco de plântulas não é muito rico.

O segundo, com aproximadamente 100 m², está localizado no alto curso do córrego (FIGURA 1), apresenta aspecto de bosque, com ausência de sub-bosque, e árvores de tamanho uniforme. A serapilheira é escassa ou inexistente, tampouco observam-se plântulas.

No restante da área da APP a cobertura florestal foi destruída e a mesma encontra-se recoberta por gramíneas (pastagem).

2.2 Metodologia

Para a realização do levantamento fitossociológico optou-se, inicialmente, pelo método de parcelas (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974), porém como os fragmentos existentes eram muito pequenos, decidiu-se pela realização de um censo, amostrando-se todos os indivíduos com CAP (circunferência à altura do peito) igual ou maior que 20 cm, o que equivale a um DAP igual ou maior que 6,37 cm.

Os indivíduos amostrados foram marcados com plaquetas de alumínio numeradas. De cada indivíduo foi coletado material botânico para identificação e estimadas altura do fuste e altura total, além de algumas características particulares que pudessem colaborar para a identificação.

Para a identificação das espécies os indivíduos foram, primeiramente, separados em morfoespécies, prensados e secos em estufa; posteriormente foram submetidos a chaves de identificação e/ou comparados com exemplares do Herbarium Rioclarense.

Os parâmetros fitossociológicos analisados foram densidade absoluta e relativa (DA e DR), frequência absoluta e relativa (FA e FR), dominância absoluta e relativa (DoA e DoR), além dos índices de valor de cobertura (IVC) e de valor de importância (IVI) que foram calculados através do aplicativo FITOPAC desenvolvido por Shepherd (1995).

Informações sobre a caracterização sucessional das espécies foram obtidas na literatura (Gandolfi *et al.*, 1995; Cardoso-Leite, 1995) apesar dessa classificação ser bastante polêmica por não terem sido efetuados estudos populacionais detalhados, como salientam alguns autores (Gandolfi *et al.*, 1995; Tabarelli & Mantovani, 1997). Utilizou-se a denominação secundárias tardias para espécies citadas como “climácicas” ou “secundárias tardias”; secundárias iniciais e pioneiras para espécies citadas como tal, respectivamente. Foram consideradas como espécies sem caracterização as espécies nativas para as quais não foram encontradas citações na literatura, e as espécies exóticas.

A vegetação foi classificada de acordo com seu estágio sucessional, adotando-se um dos critérios propostos por Budowski (1970): a proporção relativa entre o número de indivíduos de espécies iniciais (pioneiras e secundárias iniciais) e o de tardias (secundárias tardias e climácicas) que compõem o dossel da mata, considerando-se mais de 50% dos indivíduos de um estágio como determinante deste. O resultado dessa classificação sucessional foi comparado com os resultados encontrados por outros autores, em trabalhos dessa natureza, em fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual, no Estado de São Paulo (Cardoso-Leite, 1995; Dislich *et al.*, 2001). Foram utilizados esses trabalhos por serem alguns dos poucos que realizam essa classificação sucessional em fragmentos florestais no Estado de São Paulo.

Informações ecológicas sobre preferência ambiental e formações vegetacionais de ocorrência das espécies foram extraídas de Lorenzi (1992), Espécies arbóreas e... (2004), Recomposição... (2004); Espécies arbóreas da... (2004) e Listagem... (2004) e da lista de espécies recomendadas para reflorestamento heterogêneo da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (São Paulo, 2001).

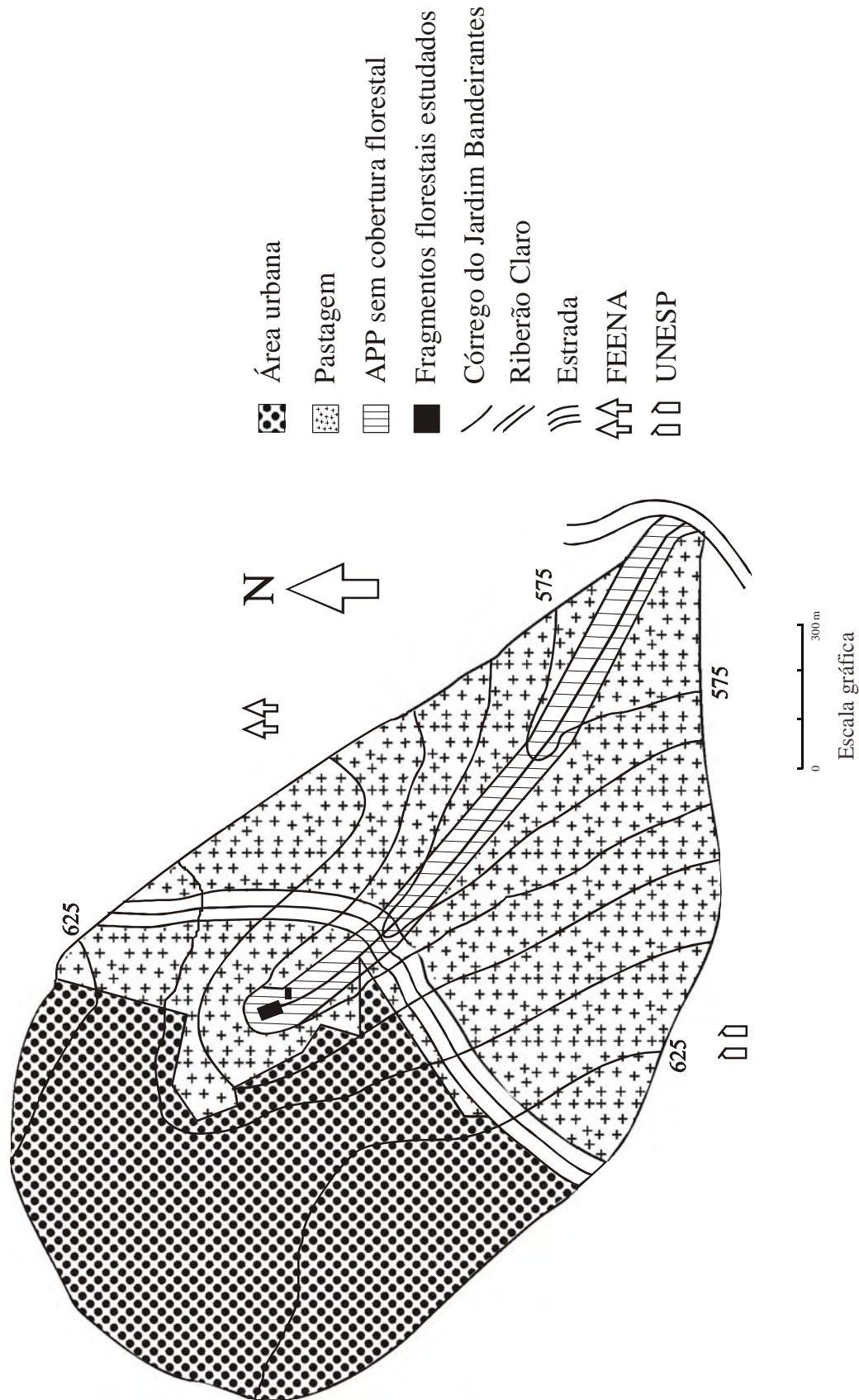


FIGURA 1 – Área da microbacia do Córrego do Jardim Bandeirantes, adaptada de Silva (1998). Curvas de nível de 10 em 10 metros. APP - área de preservação permanente; FEENA - Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade; UNESP - Universidade Estadual Paulista. Estrada sentido sul-centro, sentido norte-bairro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a coleta de dados foram observados alguns fatores de degradação da área, como a presença de animais eqüinos e bovinos que se utilizavam da mesma principalmente para obtenção de água. Observou-se, também, que esses animais além de se alimentarem de algumas plântulas de espécies nativas em regeneração, pisoteiam outras, impedindo seu estabelecimento. Isso foi observado preferencialmente na área da APP destituída de vegetação florestal.

Nos fragmentos de mata ciliar estudados foram amostrados 163 indivíduos pertencentes a 24 famílias e 40 espécies (TABELA 1). Das espécies amostradas, três são exóticas (*Eryobotria japonica* Lindl., *Hovenia dulcis* Thunb., *Morus nigra* L.), uma representa os indivíduos mortos, e as demais são nativas.

A altura e diâmetro médios foram respectivamente 7,52 m e 17,21 cm. O índice de diversidade de Shannon para espécies (H') foi de 3,081, e para as famílias foi de 2,267. As famílias com maior riqueza de espécies foram Caesalpinaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Myrtaceae e Moraceae. Dessas, as quatro primeiras são citadas por Rodrigues & Nave (2001), como as famílias de maior riqueza florística em trabalhos realizados em matas ciliares no Brasil extra-amazônico.

Quando se compara o número de espécies amostradas neste trabalho com o número de espécies amostradas nos 43 trabalhos realizados em matas ciliares do Brasil extra-amazônico (Rodrigues & Nave, 2001), verifica-se que na maioria deles, ou seja, em 35 trabalhos, foram registradas mais de 40 espécies, o que pode ser um indicativo de que a área estudada apresentou baixa diversidade.

Os resultados da análise fitossociológica estão apresentados na TABELA 1. A FIGURA 2 apresenta as dez primeiras espécies em IVC, que juntas somam 71,38% do IVC total.

Pode-se observar (FIGURA 2) a dominância de uma só espécie, no caso, *Tapirira guianensis*, o que indica alterações na dinâmica natural da floresta, provavelmente advinda de ações antrópicas.

Tapirira guianensis, com 37 indivíduos, foi a primeira espécie mais representativa, com 24,5% do IVC total (FIGURA 2). Essa é uma espécie típica de terrenos úmidos, encontrada em todas as formações vegetais, inclusive muito freqüente em formações secundárias, e produtora de frutos muito procurados pela fauna (Lorenzi, 1992). Essa espécie ocorre na floresta ombrófila densa (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) e em mata ciliar (Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004), suportando encharcamento e inundações.

Gochnatia polymorpha, com 14 indivíduos, foi a segunda espécie mais representativa com 9,6% do IVC total (FIGURA 2). É uma espécie de terrenos pobres e arenosos de cerrado e florestas estacionais (Lorenzi, 1992); sendo também citada como presente nas formações floresta ombrófila densa, cerrado (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) e mata ciliar (Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004; São Paulo, 2001).

Copaifera langsdorffii, com apenas 5 indivíduos, foi a terceira espécie mais importante com 9,4% do IVC total (FIGURA 2). É uma espécie típica da transição cerrado/floresta (Lorenzi, 1992). É citada, também, como espécie ocorrente em floresta ombrófila densa, cerrado (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) e mata ciliar, suportando encharcamento e inundações (Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004). Essa espécie ficou em terceiro lugar em IVC devido à alta dominância relativa apresentada por seus indivíduos, que compensa o baixo número de indivíduos.

Pera obovata, com oito indivíduos, e 5,7% do IVC total (FIGURA 2) foi a quarta espécie mais representativa. É uma espécie de ocorrência em floresta ombrófila densa (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004).

Alchornea triplinervea, com quatro indivíduos e 4,8% do IVC total, foi a quinta espécie mais representativa (FIGURA 2), sendo indiferente às condições de solo, muito abundante na floresta ombrófila densa perturbada (Lorenzi, 1992). A espécie é citada como ocorrente nas formações floresta ombrófila densa, cerrado (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) e mata ciliar, inclusive suportando inundações (Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004).

TABELA 1 – Número de indivíduos, IVI, IVC e grupo ecológico das espécies amostradas nos fragmentos florestais do Córrego do Jardim Bandeirantes, Rio Claro, SP. N.I. - número de indivíduos; IVI - índice de valor de importância; IVC - índice de valor de cobertura; E.S. - estágio sucessional; P – pioneira; SI - secundária inicial; ST - secundária tardia (incluindo climácicas), e SC - sem caracterização.

Espécie	N.I.	IVI	IVC	E.S.
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	37	51,44	48,94	P
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	14	21,72	19,22	P
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	5	21,34	18,84	ST
<i>Pera obovata</i> Baill.	8	13,82	11,32	ST
<i>Alchornea triplinervea</i> (Spreng.) M. Arg.	4	12,03	9,53	P
<i>Cecropia pachistachya</i> Trec.	12	11,91	9,41	P
<i>Ficus guaranitica</i> Schodat.	8	9,57	7,07	P
<i>Schizolobium parayba</i> (Vell.) Blake	5	9,07	6,57	SI
<i>Maclura tinctoria</i> (L.) D. Don ex Steud.	5	8,50	6,00	SI
<i>Styrax ferrugineus</i> Ness. et Mart.	7	8,36	5,86	P
<i>Tibouchina granulosa</i> Cogn.	4	8,27	5,77	SI
<i>Pseudoparapiptadenea aff contorta</i>	3	7,21	4,71	SC
<i>Bauhinia forficata</i> Link.	5	6,98	4,48	SI
<i>Psidium guajava</i> L.	6	6,80	4,30	P
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	5	6,73	4,23	ST
<i>Andira humilis</i> Benth.	2	5,72	3,22	ST
<i>Vitex polygama</i> Cham.	2	5,60	3,10	SI
<i>Talauma ovata</i> St. Hill.	3	5,27	2,77	SI
<i>Croton floribundus</i> Spreng.	3	5,20	2,70	P
<i>Prunus sellowii</i> Koehne	1	5,08	2,58	P
<i>Eryobotria japonica</i> Lindl.	3	4,75	2,25	SC
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	2	4,05	1,55	ST
<i>Morus nigra</i> L.	2	4,02	1,52	SC
<i>Guarea guidonea</i> (L.) Sleumer	1	3,77	1,27	SI
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	1	3,74	1,24	P
<i>Vochysia tucanorum</i> Mart.	1	3,47	0,97	P
<i>Qualea cordata</i> Spreng.	1	3,39	0,89	SC
<i>Machaerium villosum</i> Vog.	1	3,37	0,87	ST
<i>Licania humilis</i> L.	1	3,28	0,78	P
<i>Campomanesia xanthocarpa</i> Berg.	1	3,28	0,78	ST
<i>Matayba</i> sp.	1	3,27	0,77	SC
<i>Sloanea monosperma</i> Vell.	1	3,26	0,76	SI
Mortas	1	3,25	0,75	SC
<i>Trichilia pallida</i> Sw.	1	3,25	0,75	ST
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	1	3,22	0,72	SC
<i>Dalbergia villosa</i> Benth.	1	3,22	0,72	ST
<i>Aegiphila sellowiana</i> Cham.	1	3,20	0,70	P
<i>Myrcia rostrata</i> DC.	1	3,19	0,69	P
<i>Rapanea umbelata</i> (Mart.) Mez.	1	3,19	0,69	P
<i>Didymopanax vinosum</i> (Aubl.) Decne et Planch.	1	3,18	0,68	SC

CARDOSO-LEITE, E. *et al.* Fitossociologia e caracterização sucessional de um fragmento de mata ciliar, em Rio Claro/SP, como subsídio à recuperação da área.

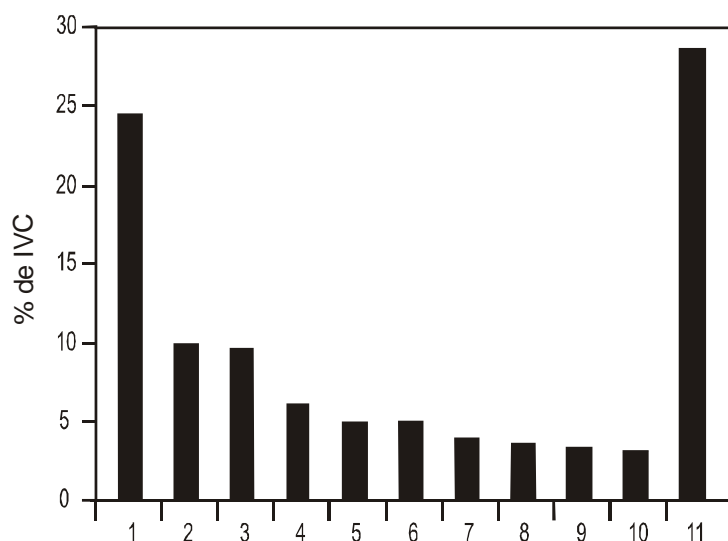


FIGURA 2 – Dez primeiras espécies em IVC amostradas nos fragmentos florestais do Córrego do Jardim Bandeirantes, Rio Claro/SP. 1 - *Tapirira guianensis*; 2 - *Gochnatia polymorpha*; 3 - *Copaifera langsdorffii*; 4 - *Pera obovata*; 5 - *Alchornea triplinervea*; 6 - *Cecropia pachystachya*; 7 - *Ficus guaranitica*; 8 - *Schizolobium parayba*; 9 - *Maclura tinctoria*; 10 - *Styrax ferrugineus*, e 11- Demais espécies somadas.

Representada por 12 indivíduos, *Cecropia pachystachya* foi a sexta espécie mais representativa (FIGURA 2). Obteve 4,7% do IVC total devido à alta densidade relativa. É uma espécie de mata ciliar (Lorenzi, 1992; São Paulo, 2001; Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004); sendo citada também como ocorrente nas formações floresta ombrófila densa e cerrado (São Paulo, 2001; Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004).

Ficus guaranitica foi a sétima espécie mais representativa com oito indivíduos e 3,5% do IVC total (FIGURA 2). É uma espécie de terra fértil, que ocorre na floresta estacional semidecidual (Lorenzi, 1992); sendo citada, também, sua ocorrência em matas ciliares (São Paulo, 2001; Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004).

Schizolobium parayba, com cinco indivíduos e 3,3% do IVC total, foi a oitava espécie mais representativa (FIGURA 2). É citada como espécie ocorrente na floresta ombrófila densa (Lorenzi, 1992; São Paulo, 2001; Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) e nas formações floresta estacional semidecidual e mata ciliar (São Paulo, 2001).

Maclura tinctoria foi a nona espécie mais representativa, contando com cinco indivíduos e 3% do IVC total (FIGURA 2). É uma espécie de solos úmidos da floresta estacional semidecidual, esparsa na floresta ombrófila densa (Lorenzi, 1992). É citada como espécie também de ocorrência no cerrado (Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004).

Styrax ferrugineus, com sete indivíduos e 2,9% do IVC total, foi a décima espécie mais representativa (FIGURA 2). É citada como espécie típica de cerrado e terrenos secos (Lorenzi, 1992; Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004).

Desta forma, pode-se dizer que as dez primeiras espécies em IVC amostradas neste trabalho não representam espécies típicas de mata ciliar ou restritas a este ecossistema, e sim espécies de ampla distribuição, pois ao mesmo tempo em que ocorrem em matas ciliares estão presentes, também, em outros ecossistemas.

Das quarenta espécies amostradas na área, cinco (12%) poderiam ser consideradas típicas de matas ciliares, pois são citadas em 48% dos trabalhos de mata ciliar do Brasil extra-amazônico, compilados por Rodrigues & Nave (2001). São elas: *Tapirira guianensis*, *Copaifera langsdorffii*, *Cecropia pachystachya*, *Casearia sylvestris* e *Trichilia pallida*.

No entanto, essas espécies ocorrem em outras formações como floresta ombrófila densa, floresta estacional semidecidual e cerrado (Espécies arbóreas e..., 2004; Recomposição..., 2004; Espécies arbóreas da..., 2004; Listagem..., 2004) o que confirma que a área apresenta espécies de ampla distribuição.

Comparando as espécies amostradas com a lista de espécies indicadas para reflorestamento heterogêneo de áreas degradadas (São Paulo, 2001) pode-se verificar que das 40 espécies amostradas 18 estão presentes nesta listagem, e todas elas são citadas como ocorrentes em matas ciliares. São elas: *Aegiphila sellowiana*, *Bauhinia forficata*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Casearia sylvestris*, *Cecropia pachystachya*, *Copaifera langsdorffii*, *Croton floribundus*, *Ficus guaranitica*, *Gochnatia polymorpha*, *Guarea guidonea*, *Hymenaea courbaril*,

Machaerium villosum, *Schinus terebinthifolius*, *Schizolobium parayba*, *Talauma ovata*, *Tapirira guianensis*. Dessa forma, essas espécies poderiam ser indicadas como as espécies a serem utilizadas prioritariamente no reflorestamento da área da APP destituída de vegetação, do Córrego do Jardim Bandeirantes.

A FIGURA 3 mostra a porcentagem de indivíduos das espécies dos diferentes grupos sucessionais amostrados neste trabalho, e a TABELA 2 compara-os com outros trabalhos dessa natureza realizados em fragmentos de floresta estacional semidecidual, no Estado de São Paulo.

Pode-se observar que no presente estudo houve predomínio de espécies pioneiras, ou seja, mais de 50% dos indivíduos pertenceram a este grupo sucessional, portanto os fragmentos amostrados podem ser considerados jovens, o que indica que sofreram perturbações recentes.

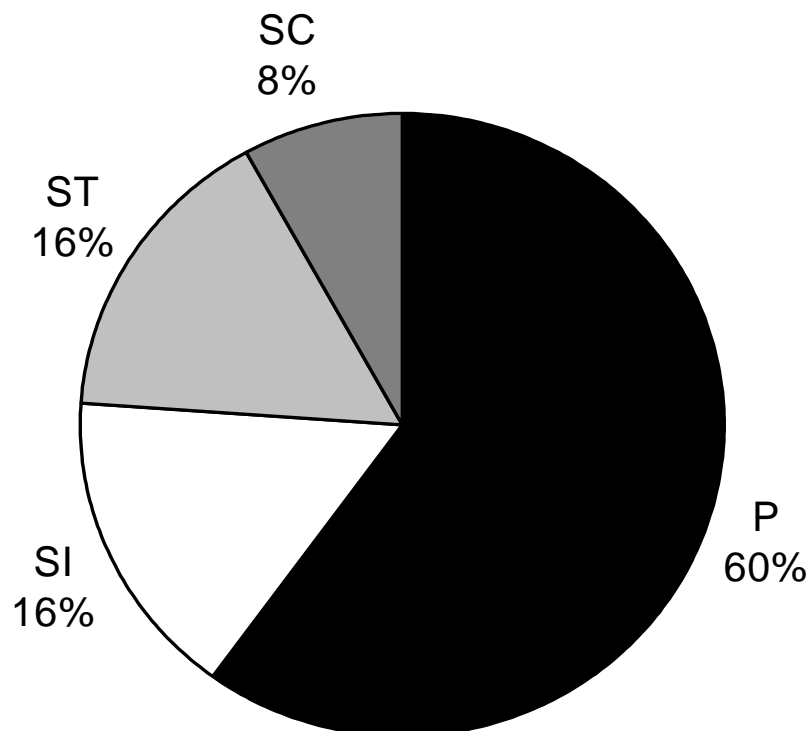


FIGURA 3 – Porcentagem de indivíduos das espécies dos diferentes estádios sucessionais, amostrados nos fragmentos de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, Rio Claro SP. P = pioneiras; SI = secundárias iniciais; ST = secundárias tardias, e SC = sem caracterização.

TABELA 2 – Porcentagem de indivíduos amostrados dos diferentes estádios sucessionais, nos fragmentos de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, Rio Claro/SP, em comparação com outros trabalhos realizados no Estado de São Paulo. APP – área de preservação permanente.

Estádio sucessional	O presente estudo Área: 0,13 ha Proteção: APP	Cardoso-Leite (1995) Área: 127,89 ha Proteção: Reserva Florestal	Dislich <i>et al.</i> (2001) Área: 10,21 ha Proteção: Reserva Florestal
P	60,1	22,2	49,0
Si (ou S)	16	33,1	16,0
ST (ou Cli)	16	34,7	35,0
SC	7,9	10,0	0,0

Das áreas comparadas (TABELA 2) aquela que se mostrou mais madura foi a área de floresta estacional estudada em São Roque, SP (Cardoso-Leite, 1995), mas mesmo assim não pode ser considerada uma floresta em estágio climácico, pois as espécies tardias não chegaram a 50% do total. Os fragmentos estudados por Dislich *et al.* (2001), em São Paulo, apresentaram também predomínio de espécies pioneiras, no entanto, se pode dizer que se encontra num estágio sucessional mais avançado que o encontrado para a mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes, por apresentar também um proporção relativamente grande (35%) de espécies climácicas. Esses resultados muito provavelmente refletem a categoria de proteção das áreas comparadas (Cardoso-Leite, 1995; Dislich *et al.*, 2001) que constituem Reservas Florestais, o que não acontece com a área estudada e o tamanho dos fragmentos, que são bem maiores nas áreas comparadas que nos fragmentos aqui estudados (TABELA 2).

A partir dos resultados acima apresentados, pode-se dizer que os remanescentes de floresta, ainda existentes na área, se apresentam fortemente degradados necessitando, portanto, de ações de manejo urgentes. A recuperação do ecossistema “Mata Ciliar”, na APP do Córrego do Jardim Bandeirantes, exige manejos específicos nos fragmentos e nas áreas destituídas de vegetação.

Nos fragmentos pode-se recomendar o enriquecimento de espécies, como proposto por Rodrigues & Gandolfi (2001), para áreas com vegetação degradadas. Como os fragmentos apresentaram dominância de espécies pioneiras, recomenda-se que sejam utilizadas no enriquecimento, principalmente espécies secundárias tardias e/ou climácicas.

Na área da APP destituída de cobertura florestal, além do isolamento da área e da retirada dos fatores de degradação, os passos a serem seguidos na recuperação da mata ciliar (Rodrigues & Gandolfi, 2001) são a implantação de consórcios de espécies com uso de mudas ou sementes e a indução e condução do banco de sementes.

Nesse caso os principais fatores de degradação são a presença de bovinos e eqüinos na área, que devem ser retirados da mesma antes de se iniciar a implantação dos consórcios.

Nos consórcios recomenda-se que sejam utilizadas mudas, pois no caso do uso de sementes o processo de ocupação da área seria mais lento. Essas mudas devem ser de espécies nativas da região, preferencialmente aquelas amostradas nos fragmentos estudados e que constem na lista de espécies recomendadas para reflorestamentos heterogêneos no Estado de São Paulo (São Paulo, 2001). O número de espécies a serem utilizadas deve seguir as recomendações da Secretaria do Meio Ambiente do Estado (São Paulo, 2001).

Recomenda-se, ainda, que os consórcios utilizem o modelo sucessional (Kageyama & Gandara, 2001) e que o plantio seja feito, preferencialmente, em módulos ou em linhas. Esse modelo é recomendado por diversos autores para reflorestamentos (São Paulo, 2001).

4 CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho mostram que os fragmentos de mata ciliar do Córrego do Jardim Bandeirantes se encontram fortemente degradados.

CARDOSO-LEITE, E. *et al.* Fitossociologia e caracterização sucessional de um fragmento de mata ciliar, em Rio Claro/SP, como subsídio à recuperação da área.

Considerando-se o fato de que esses remanescentes representam menos de 1,5% do total da área, e que a bacia apresenta um terreno com declividade bastante acentuada, apresentando problemas de erosão, e como se trata de um afluente de manancial de abastecimento de água, urge que a recomposição da vegetação nativa seja prioridade.

Finalmente, como se trata de uma área urbana, localizada em bairros periféricos onde as opções de lazer e recreação ao ar livre são bastante restritas, acredita-se que a melhor destinação da área seja transformá-la, após o reflorestamento das margens do Córrego do Jardim Bandeirantes, em um Parque Natural Municipal, como forma de conservar os recursos hídricos e a biodiversidade local.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Fundo Estadual de Recursos Hídricos - FEHIDRO pelo financiamento do projeto; aos funcionários e responsáveis pelo Herbarium Rioclarense, pelo auxílio na identificação das espécies, e às Profas. Dras. Giovana Bertini e Kelly B. Sevegnani, da UNESP-Registro, pelo auxílio na elaboração das figuras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução Conama nº 302, de 20 de março de 2002. Dispõe sobre parâmetros, definições e limites de Áreas de Preservação Permanente. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 90, 13 maio 2002. Seção 1.

_____. Lei nº 4.771, de 15 de setembro de 1965. Institui o Novo Código Florestal. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br>>. Acesso em: 20 abr. 2004.

BUDOWSKI, G. The distinction between old secondary and climax species in tropical central american lowland rainforest. **Tropical Ecology**, Varanas, v. 11, p. 44-48, 1970.

CARDOSO-LEITE, E. **Ecologia de um fragmento florestal em São Roque, SP**: florística, fitossociologia e silvigenese. 1995. 234 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DELITTI, W. B. C. Ciclagem de nutrientes minerais em matas ciliares. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, 1., 1989, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1989. p. 88-98.

DISLICH, R.; CERSÓSIMO, L.; MANTOVANI, W. Análise da estrutura de fragmentos florestais no Planalto Paulistano-SP. **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 321-332, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Levantamento pedológico semidetalhado do Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1981. Escala 1:100 000.

ESPÉCIES arbóreas e arbustivas da mata ciliar. In: FUNDAÇÃO TROPICAL DE PESQUISAS E TECNOLOGIA "ANDRÉ TOMASELLO". **Base de Dados Tropical**. Disponível em: <www.bdt.fat.org.br/ciliar/sp/especies>. Acesso em: 15 fev. 2004.

ESPÉCIES arbóreas da Mata Atlântica. In: FUNDAÇÃO TROPICAL DE PESQUISAS E TECNOLOGIA "ANDRÉ TOMASELLO". **Base de Dados Tropical**. Disponível em: <www.bdt.fat.org.br/mata.atlantica/flora/especies>. Acesso em: 15 fev. 2004.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro, 1992. 92 p. (Série Manuais Técnicos em Geociências, 1).

GANDOLFI, S.; LEITÃO FILHO, H. de F.; BEZERRA, C. L. F. Estudo florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma floresta mesófila semidecídua no município de Guarulhos, SP. **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 735-767, 1995.

KAGEYAMA, P.; GANDARA, F. B. Recuperação de áreas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. de F. (Org.). **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: EDUSP: FAPESP, 2001. cap. 15.2, p. 249-269.

LIMA, W. P.; ZAKIA, M. J. B. Hidrologia de matas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. de F. (Org.). **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: EDUSP: FAPESP, 2001. cap. 3, p. 33-44.

CARDOSO-LEITE, E. *et al.* Fitossociologia e caracterização sucessional de um fragmento de mata ciliar, em Rio Claro/SP, como subsídio à recuperação da área.

LISTAGEM de espécies da flora do cerrado. In: FUNDAÇÃO TROPICAL DE PESQUISAS E TECNOLOGIA “ANDRÉ TOMASELLO”. **Base de Dados Tropical**. Disponível em: <www.bdt.fat.org.br/cerrado/flora/sp/especies>. Acesso em: 15 fev. 2004.

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

MUELLER-DOMBOIS, D.; ELLENBERG, H. **Aims and methods of vegetation ecology**. New York: John Wiley & Sons, 1974. 574 p.

PAGANO, S. N.; CESAR, O.; LEITÃO FILHO, H. de F. Composição florística do estrato arbustivo-arbóreo da vegetação de Cerrado da Área de Proteção Ambiental (APA) de Corumbataí- Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 1, p. 37-48, 1989.

PONÇANO, W. T. *et al.* **Mapa geomorfológico do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas - IPT, 1981. (IPT - Série Monografias, 5).

RECOMPOSIÇÃO da mata ciliar: banco de dados de espécies In: FUNDAÇÃO TROPICAL DE PESQUISAS E TECNOLOGIA “ANDRÉ TOMASELLO”. **Base de Dados Tropical**. Disponível em: <www.bdt.fat.org.br/ciliar/sp/formul>. Acesso em: 15 fev. 2004.

RODRIGUES, R. R. Uma discussão nomenclatural das formações ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. de F. (Org.). **Matas ciliares**: conservação e recuperação. São Paulo: EDUSP: FAPESP, 2001. cap. 6.1, p. 91-99.

_____.; NAVE, A. Heterogeneidade florística das matas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. de F. (Org.). **Matas ciliares**: conservação e recuperação. São Paulo: EDUSP: FAPESP, 2001. cap. 4, p. 45-71.

_____.; GANDOLFI, S. Conceitos, tendências e ações para a recuperação de florestas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. de F. (Org.). **Matas ciliares**: conservação e recuperação. São Paulo: EDUSP: FAPESP, 2001. cap. 15.1, p. 235-247.

SHEPHERD, G. J. **FITOPAC**: manual do usuário. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Botânica, 1995. 94 p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA - 21, de 21-11-2001. Fixa orientação para o reflorestamento heterogêneo de áreas degradadas e dá providências correlatas. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 111, n. 221, 23 nov. 2001.

SILVA, W. G. **Análise geomorfológica como suporte à gestão ambiental**: um estudo de caso. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, 1998. 123 p. (Trabalho de Conclusão do Curso - Graduação em Ecologia).

TABARELLI, M.; MANTOVANI, W. Colonização de clareiras naturais na floresta atlântica no Sudeste do Brasil. **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v. 20, p. 57-66, 1997.

ZAINE, M. F. **Patrimônios naturais e história geológica da região de Rio Claro/SP**. Rio Claro: Câmara Municipal de Rio Claro: Arquivo Público e Histórico do Município de Rio Claro, 1996. 91 p.

VARIAÇÃO DAS DIMENSÕES DOS ELEMENTOS ANATÔMICOS DA MADEIRA DE ÁRVORES DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden AOS SETE ANOS*

Finê Thomaz ROCHA**
Sandra Monteiro Borges FLORSHEIM**
Hilton Thadeu Zarate do COUTO***

RESUMO

A variação das dimensões dos elementos anatômicos do lenho tem um efeito marcante sobre a qualidade da madeira e o produto final. Visando obter melhores informações sobre o assunto, foram coletadas amostras de árvores dominantes, intermediárias e dominadas de *Eucalyptus grandis* aos sete anos, com o objetivo de verificar as variações das dimensões dos elementos anatômicos entre árvores, no sentido medula-casca e base-topo. De cada árvore foram retirados discos de madeira na base, 25, 50, 75 e 100% da altura comercial. Em cada disco foram demarcados corpos de prova a 0, 50 e 100% do raio. Os elementos anatômicos foram mensurados através de programa de análise de imagens. Os resultados permitem concluir que: (a) das classes sociológicas, a dominante apresentou fibras 14% mais longas e 20% mais espessas, diâmetro de vasos 30% mais largo e raios 20% mais altos do que as outras classes; (b) os maiores valores das dimensões das fibras e comprimento de vasos foram encontrados a 25% da altura comercial, os vasos apresentaram-se mais largos a 75% e a frequência de raios foi maior no topo, e (c) em todas as dimensões das fibras, o diâmetro e o comprimento dos vasos foram crescentes.

Palavras-chave: *Eucalyptus grandis*; madeira; variação anatômica; classe sociológica.

1 INTRODUÇÃO

As plantações de eucaliptos têm sido ampliadas em muitos países pela excelência das suas propriedades da madeira na fabricação de papel, particularmente papel para impressão (Downes *et al.*, 1997), e pelas altas taxas de crescimento das árvores.

O *Eucalyptus grandis*, por apresentar rápido crescimento e elevada produtividade, é uma das espécies mais cultivadas em reflorestamento no Brasil.

ABSTRACT

The variation in the dimensions of the anatomical elements of the xylem has a marked effect on the quality of wood and on the final product. In order to obtain further information about this variation samples of dominant, intermediate and dominated 7-year-old *Eucalyptus grandis* trees were collected. The aim was to analyze the variation in the dimensions of the anatomical elements among trees in the pith-bark and base-top directions. Wood disks from the base, 25, 50, 75 and 100% of the commercial height were removed from each tree. From each disk samples at 0, 50 and 100% of the radius were defined. The anatomical elements were measured through image analysis. The results indicate that: (a) of all sociological classes, the dominant one showed fibers 14% longer and 20% thicker, vessel diameter 30% wider, and rays 20% higher and wider; (b) the highest values of fiber dimensions and vessel length were found at 25% of commercial height, the vessels were the widest at 75% of commercial height, and ray frequency was the greatest at the top, and (c) all fiber dimensions, and vessel diameter and length increased from pith to bark.

Key words: *Eucalyptus grandis*; sociological classes; anatomical elements; pith-bark and base-top variation.

Sua madeira é utilizada para a produção de carvão vegetal e de celulose e papel, em função de suas propriedades físicas, entre elas, a densidade básica (Jesus & Vital, 1986). Record & Hess (1949) caracterizaram a madeira de *E. grandis*, como dura, pesada, resistente, com textura fina e baixa estabilidade dimensional, enquanto Nahuz *et al.* (1997) acrescentam a coloração castanha avermelhada clara, grã direita, com gosto e cheiro indistintos e limitada durabilidade natural.

(*) Aceito para publicação em abril de 2004.

(**) Instituto Florestal, R. do Horto, 931, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil.

(***) ESALQ/IEF, Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, 13400-970, Piracicaba, SP, Brasil.

Sob o aspecto da anatomia da madeira, as dimensões, a distribuição e o arranjo estrutural das células podem conferir propriedades como resistência mecânica elevada em relação à massa, boa trabalhabilidade, isolamento térmico e acústico.

A madeira das folhosas apresenta distribuição dos elementos celulares bastante característica, com a maioria dos estudos dirigidos para a avaliação das fibras. Segundo Downes *et al.* (1997) o comprimento, a espessura das paredes e o lume das fibras influenciam, diretamente, na densidade básica, determinando a massa de polpa para a produção de papel em um dado volume de madeira.

Além das fibras, outros elementos celulares devem ser estudados, como os vasos e parênquima axial e radial, por fornecerem informações importantes nas características superficiais dos papéis para impressão. Além disso, afetam o movimento dos líquidos no processo de preservação da madeira (Florsheim *et al.*, 2000).

Em populações de *E. grandis*, além das diferenças nas propriedades da madeira, é comum a estratificação das árvores de um mesmo plantio em “classes sociológicas”, denominadas dominantes, intermediárias e dominadas.

Sendo assim, o presente trabalho visa verificar a variação nas dimensões dos elementos anatômicos da madeira, de árvores dominadas, intermediárias e dominantes de *Eucalyptus grandis* aos sete anos de idade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Muitos estudos têm sido feitos sobre as características estruturais das madeiras de *Eucalyptus*. Segundo Tomazello Filho (1983), a variabilidade das madeiras de eucalipto foi inicialmente pesquisada por Bisset & Dadswell (1949), que ao estudarem as variações nas dimensões das fibras de *E. regnans* com 50 anos de idade, observaram o aumento do comprimento das fibras no sentido medula-casca até o 10º anel de crescimento, além do maior comprimento das fibras no lenho outonal em comparação ao primavera.

Posteriormente, Banks (1954), na África do Sul, demonstrou a tendência das árvores de *E. grandis* na estabilização da densidade básica aos 12 anos, pela provável formação de madeira adulta.

Brasil & Ferreira (1972) estudaram a variabilidade das dimensões das fibras em árvores de *E. grandis*, aos cinco anos, observando alta variação entre as árvores, e que deve ser considerada em trabalhos de seleção de árvores matrizes.

Em outro estudo com *E. grandis* aos cinco anos, Taylor (1973) encontrou pequena variabilidade no comprimento das fibras na região central do lenho em relação à altura das árvores; ao contrário, as fibras próximas ao câmbio apresentavam grande variação no comprimento.

Rezende *et al.* (1998) estudaram a variação da massa específica da madeira de *E. grandis*, aos oito anos, em diferentes níveis de produtividade e observaram que os valores encontrados na base (0%) foram significativamente maiores do que os encontrados a 25% da altura comercial do tronco.

Comparando as relações entre a densidade básica e as características químicas e anatômicas das fibras, nas posições em altura (base-topo) e radial (medula-casca), Shimoyama (1990) observou que a variação da densidade básica da madeira de *Eucalyptus* spp. é mais influenciada pelas características anatômicas.

Para Scurfield (1976) as propriedades físicas da madeira como a densidade básica, parâmetro de fácil obtenção, influenciam na qualidade do papel, havendo a necessidade de analisar parâmetros ligados à anatomia da madeira.

Baptista *et al.* (2003), ao caracterizarem a madeira de híbridos de *E. grandis*, verificaram que o modelo de variação medula-casca mais comum se caracteriza pelo aumento do comprimento das fibras e do diâmetro dos vasos, bem como, na redução da frequência dos vasos. Resultados similares também foram encontrados por Bamber & Humphrey (1963); Brasil & Ferreira (1972); Malan & Gericher (1987); Vital & Della Lucia (1987); Bhat *et al.* (1990) e Shimoyama (1990).

Bhat *et al.* (1990) ao estudarem as árvores de *E. grandis* aos três, cinco, sete e nove anos, mensuraram o comprimento das fibras à 0, 25, 50 e 75% da altura total do tronco e em três pontos do raio, encontraram diferenças significativas em relação à idade das árvores. Em média, o comprimento das fibras aumentou de 0,81 mm aos três anos, para 1,15 mm aos nove anos. Quanto à variação em altura do tronco, houve um pequeno aumento até 25% do comprimento das fibras, que decresceu, posteriormente, até o topo das árvores.

Oliveira *et al.* (1999), ao analisarem a qualidade da madeira de árvores de sete espécies de eucaliptos, de diversas procedências, em Anhembi – SP, com idade média de 16 anos, observaram que *E. citriodora* e *E. paniculata* apresentaram maior espessura do alburno; *E. grandis*, *E. pilularis* e *E. cloeziana* apresentaram alburno mais estreito podendo limitar a sua utilização pela menor quantidade de madeira tratável. Das espécies estudadas, *E. grandis* destacou-se com incrementos volumétricos de 63 m³/ha/ano, justificando sua utilização nos projetos de reflorestamento para produção de madeira. Resultados semelhantes foram observados por Busnardo *et al.* (1978) ao analisarem a qualidade da madeira de 13 espécies de eucaliptos em Linhares – ES.

Davidson (1972) analisou as variações nas propriedades da madeira de árvores de *E. deglupta*, em Papua Nova-Guiné, e verificou que os parâmetros relacionados com a dimensão das fibras, principalmente com a quantidade de parede na seção transversal, explicam 58,5% da variação total; os parâmetros relacionados com o volume e dimensão dos vasos e de outros tecidos, explicam 18,8% da variação; os parâmetros relacionados com o lume das fibras, explicam 11,9% e os parâmetros relacionados com o comprimento das fibras, 4,2% da variação.

Bamber & Humphrey (1963), estudando a madeira de árvores de *E. grandis*, encontraram grandes diferenças para o diâmetro e frequência dos vasos, em diferentes posições dos anéis de crescimento, sentido medula-casca. O diâmetro dos vasos aumentou de 64, no lenho inicial, para 141 µm no tardio, e a frequência diminuiu de 1,73 para 0,48 vasos/mm².

Da mesma forma, Taylor (1973) observou que o diâmetro tangencial dos vasos aumentou no sentido radial, com diferenças significativas entre árvores, com valores entre 74 e 205 µm, correspondendo de 9 a 21% do volume da madeira.

O diâmetro dos vasos foi significativo entre árvores de eucalipto de crescimento rápido e normal, com valores entre 61 e 74 µm, respectivamente. Por outro lado, árvores de rápido crescimento têm menor frequência de vasos em relação ao normal (14,1/mm²), explicando a tendência da maior densidade de madeira de árvores de rápido crescimento, embora não significativa (Bamber *et al.*, 1982).

Vital & Della Lucia (1987) observaram que para árvores de *E. grandis* e *E. urophylla* o diâmetro dos vasos aumentou no sentido medula-casca, sem mostrar diferenças significativas entre as 4 posições radiais amostradas, com os vasos próximos da casca significativamente mais longos do que os das demais posições.

Clarke *apud* Downes *et al.* (1997) reportou correlações fenotípicas baseadas na média de família, sendo o diâmetro tangencial dos vasos significativo e positivamente correlacionado com a altura da árvore, DAP, volume e comprimento da fibra.

Malan (1991), estudando a associação de herança de crescimento em árvores de *E. grandis*, na África do Sul, concluiu que, apesar de ser encontrada correlação significativa e negativa entre taxa de crescimento e frequência de vasos na posição radial, o efeito do crescimento dessa árvore pode ter um significado prático muito pequeno.

Florsheim *et al.* (2000), estudando árvores de *E. saligna* aos sete anos, observaram diferenças na largura dos raios (µm e n^o/mm), nas classes sociológicas, altura na árvore e posição radial. Nas árvores da classe dominante foram encontrados raios com os maiores valores de altura, largura e frequência; com a altura e largura dos raios crescentes da medula para a casca, sem apresentar diferença estatística.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram amostradas árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden de povoamentos com sete anos de idade implantados no município de Telêmaco Borba (PR) – de propriedade da Klabin, plantados em espaçamento 2,5 x 2,5 m.

As árvores foram selecionadas por classe sociológica, segundo Zobel & Buijtenen (1989), em dominante, intermediária e dominada, através de seleção casual.

Para cada árvore, foram coletadas amostras na forma de discos (método destrutivo), na base, 25, 50, 75 e 100% da altura comercial. Dos discos de madeira foram retiradas amostras com 3 cm de largura, da medula até a casca, utilizando-se uma serra fita e obtidos corpos-de-prova (2 x 1,5 x 2 cm) nos planos transversal, longitudinal, tangencial e radial, respectivamente, na região a 0% (medula), a 50 e a 100% (próximo à casca) (FIGURAS 1 e 2).

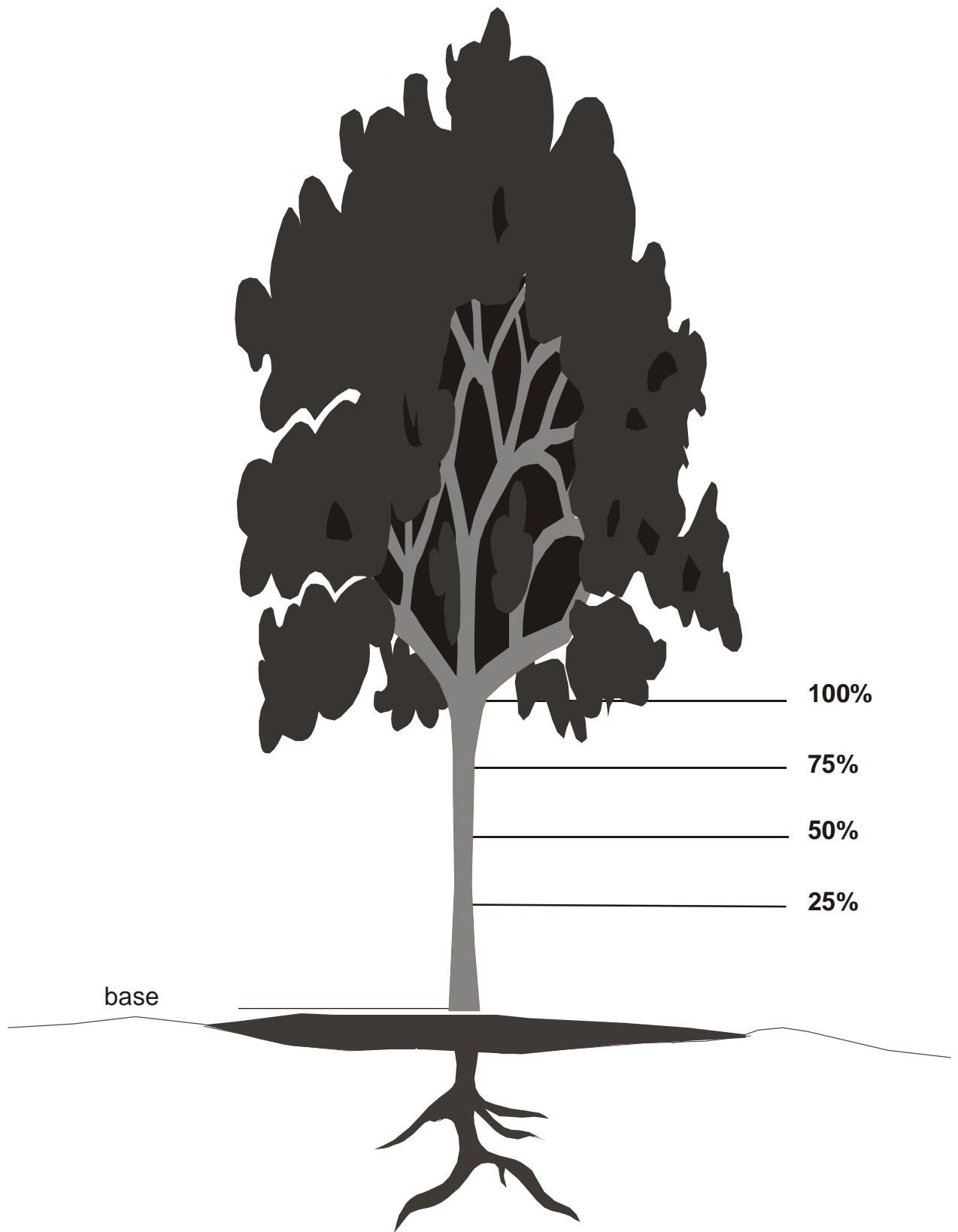


FIGURA 1 – Posições de coletas dos discos de madeira nas árvores de *Eucalyptus grandis*.

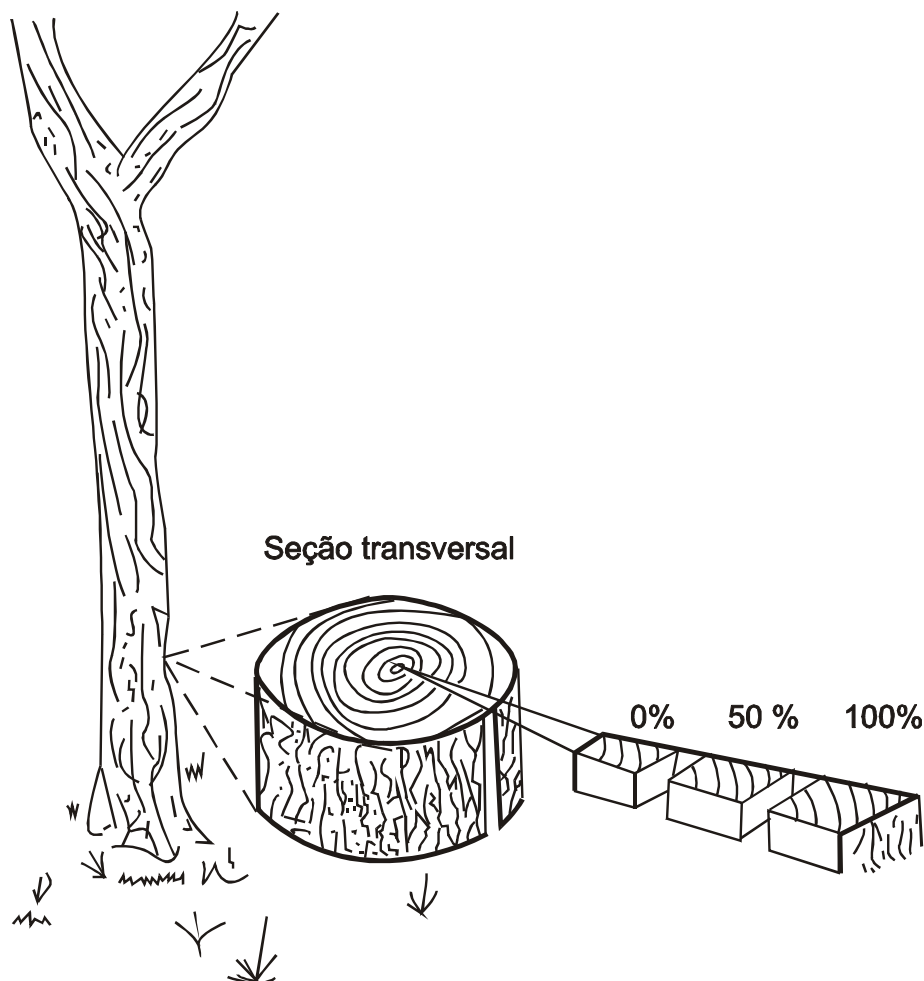


FIGURA 2 – Local de retirada dos corpos-de-prova destinados ao estudo da variação dos elementos anatômicos.

Os cortes histológicos dos corpos-de-prova, nos três planos, foram realizados em micrótomo de deslize, e as lâminas histológicas montadas segundo Jeffrey *apud* Johansen (1940).

Foram retirados pequenos fragmentos de madeira de cada corpo-de-prova e dissociados segundo o método de Jeffrey *apud* Johansen (1940), e montadas lâminas provisórias, possibilitando a mensuração das dimensões das fibras.

Adotou-se a terminologia recomendada por Iawa Committee (1989) e Comissão Panamericana de Normas Técnicas - COPANT (1974).

A dimensão dos elementos anatômicos foi obtida em equipamento de análise de imagens (microscópio trinocular com câmara e monitor de vídeo), utilizando-se o software de análise de imagem "Image Pro-plus" para as medições. Obtidas as dimensões das fibras, foram calculados:

- Índice de Runkel (IR) = $2P/Lu$;
- Fração Parede (FP) = $(2P/D) \times 100$;
- Índice de Enfeltramento (EF) = $(C/D) \times 1000$, e
- Coeficiente de Flexibilidade (CF) = $(Lu/D) \times 100$.

Onde:

P = espessura da parede;

Lu = diâmetro do lume;

C = comprimento da fibra, e

D = diâmetro tangencial da fibra.

Visando verificar as diferenças entre as dimensões dos elementos celulares com a classe sociológica, posição axial e radial, foram realizadas análises de variância e testes de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de Variância

Os resultados da análise de variância dos valores das dimensões das fibras, vasos e raios, estão contidos nas TABELAS 1, 2 e 3, respectivamente.

Para as fibras (TABELA 1), verificou-se que o comprimento variou em relação à classe sociológica, à posição em altura e à posição radial, com valores de F altamente significativos. Quanto às dimensões de diâmetro tangencial e lume, as variações foram observadas para classe sociológica e posição radial. A parede das fibras apresentou valor de F estatisticamente significativo somente em relação à posição sociológica.

Para os vasos (TABELA 2), verificou-se que os valores de F foram altamente significativos

para classe sociológica, altura e posição radial, indicando que existem diferenças para diâmetro tangencial e frequência por mm² entre as variáveis estudadas. Quanto ao comprimento dos elementos de vaso, os valores de F são altamente significativos para altura e posição radial.

A análise de variância para as dimensões dos raios (TABELA 3) apresentou valores de F altamente significativos para largura em μm nas três variáveis estudadas. A altura dos raios, em número de células, variou apenas para classe sociológica e posição radial. A frequência dos raios por milímetro variou para altura e posição radial (altamente significativo), enquanto a altura dos raios, em μm , variou apenas em relação à classe sociológica. Os valores de largura dos raios em número de células não apresentaram variações estatisticamente significativas em nenhuma das variáveis estudadas.

TABELA 1 – Resultado do teste F na análise de variância para as dimensões das fibras de *E. grandis* aos sete anos.

	Comprimento F	Diâmetro Tangencial F	Lume F	Parede F
C. V. (%)	15,64	17,19	26,41	23,74
Classe sociológica	24,57**	11,46**	33,48**	15,55*
Altura na árvore	6,07**	4,03 ^{ns}	4,56 ^{ns}	1,48 ^{ns}
Posição radial	124,03**	12,78**	13,91**	1,20 ^{ns}

Onde: ** = significativo a nível de 1% de probabilidade; * = significativo a nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo, e C.V. = coeficiente de variação.

TABELA 2 – Resultados do teste F da análise de variância para as dimensões dos vasos de *E. grandis* aos sete anos.

	Comprimento	Diâmetro Tangencial	Freq. (n ^o vasos/mm ²)
C.V. (%)	23,88	16,42	28,95
Classe Sociológica	2,56 ^{ns}	107,87**	46,55**
Altura na árvore	12,85**	12,23**	18,94**
Posição radial	57,22**	226,65**	124,23**

Onde: ** = significativo a nível de 1% de probabilidade; * = significativo a nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo, e C.V. = coeficiente de variação.

TABELA 3 – Resultados do teste F na análise de variância para as dimensões dos raios de *E. grandis* aos sete anos.

	Altura (μm)	Altura (n ^o células)	Largura (μm)	Largura (n ^o células)	Frequência. (raios./mm)
C.V. (%)	25,42	27,59	14,47	47,13	40,77
Classe Sociológica	33,57**	22,51**	16,51**	1,11 ^{ns}	3,90 ^{ns}
Altura na árvore	2,28 ^{ns}	3,42 ^{ns}	32,58**	1,05 ^{ns}	6,09**
Posição radial	0,05 ^{ns}	18,83**	18,74**	0,26 ^{ns}	7,88*

Onde: ** = significativo a nível de 1% de probabilidade; * = significativo a nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo, e C.V. = coeficiente de variação.

4.2 Fibras

4.2.1 Posição sociológica

Analisando-se a TABELA 4, pode-se observar que a classe dominante apresenta os maiores valores de comprimento das fibras e espessura da parede, diferindo estatisticamente das outras classes.

A diferença para o comprimento deve ser levada em consideração, uma vez que, segundo Brito *et al.* (1976), esta característica influencia determinantemente na resistência dos papéis à tração, ao arrebentamento e ao rasgo.

A resistência da celulose e papel tem uma altíssima relação com a espessura da parede da fibra.

Acrescente-se, ainda, o fato de que as fibras com paredes mais espessas possuem maior teor relativo de celulose do que fibras de paredes finas, existindo, também, uma correlação positiva entre a espessura da parede e o rendimento em produção de celulose (Paula, 1999).

A classe intermediária apresenta os maiores valores de diâmetro tangencial e lume, sem diferir da classe dominada, porém, estatisticamente diferente da classe dominante.

Considerando-se a afirmação de Shimoyama (1990) de que a espessura da parede e lume das fibras são os fatores que mais influenciam na densidade da madeira, pode-se considerar a classe dominante como apresentando a madeira mais densa.

TABELA 4 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões das fibras – posição sociológica.

Classe Sociológica	Comprimento (µm)	Diâmetro Tangencial (µm)	Lume (µm)	Parede (µm)
Dominada	866,08 ^c	19,25 ^a	12,02 ^a	3,62 ^b
Intermediária	942,88 ^b	19,96 ^a	12,36 ^a	3,80 ^b
Dominante	986,74 ^a	18,10 ^b	9,67 ^a	4,21 ^a

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

A TABELA 5 apresenta os valores dos índices calculados entre as dimensões das fibras, relacionando-os com as classes sociológicas. Os resultados do presente estudo mostram maiores valores de Índice de Runkel e Índice de Enfeltramento para a classe dominante.

Considerando-se os valores do Índice de Runkel, estes podem ser classificados como bons, uma vez que Runkel *apud* Paula (1999) propôs a seguinte classificação: fibra com índice até 0,25 considerada

como excelente para papel; de 0,25 a 0,50 é muito boa; de 0,50 a 1,00 é boa; de 1,00 a 2,00 regular, e acima de 2,0 não deve ser usada para papel, tendo em vista tratar-se de fibras com paredes espessas ou muito espessas. Conforme Foeckel & Barrichelo (1975), o Índice de Runkel se relaciona diretamente com as propriedades da celulose e do papel e quando o seu valor é menor do que um, verifica-se que a celulose é bem mais resistente, pois as fibras possuem maior capacidade de interligações.

TABELA 5 – Resultados dos Índices calculados entre as dimensões das fibras com as classes sociológicas.

Relação	Classe sociológica		
	Dominada	Intermediária	Dominante
Índice de Runkel	0,60	0,61	0,88
Índice de Enfeltramento (%)	44,99	47,24	54,53
Fração Parede (%)	37,61	38,08	46,52
Coeficiente de Flexibilidade (%)	62,44	61,74	53,43

Em relação à fração parede a classe dominante apresentou o valor de 46,52%, possibilitando a inferência de que a celulose produzida com essa madeira terá menor qualidade, em comparação com as outras duas classes. Fração parede é um índice que influencia a qualidade da celulose e, de acordo com Foeckel & Barrichelo (1975), valores superiores a 40% não produzem celulose de boa qualidade. Isso porque as fibras são extremamente rígidas, pouco flexíveis e com dificuldades nas interligações das mesmas. Essa relação mantém proporcionalidade positiva com a resistência ao rasgo e negativa com a resistência à tração, ao arrebentamento e com o peso específico. Segundo Brito *et al.* (1976) há uma correlação positiva entre a fração parede e a resistência ao rasgo. Há controvérsias com relação a resistência à tração.

A classe dominada apresentou maior valor de coeficiente de flexibilidade. Segundo Foeckel & Barrichelo (1975) os maiores valores desse coeficiente caracterizam as fibras mais flexíveis, facilitando as ligações entre as mesmas. O coeficiente de flexibilidade relaciona-se positivamente com a resistência à tração, arrebentamento. Brito *et al.* (1976) acrescentam que maiores valores de coeficiente de flexibilidade refletem em maior massa específica da folha.

4.2.2 Posição em altura

As dimensões das fibras variaram de maneira diferente, em relação à posição em altura do tronco das árvores estudadas.

Observando-se a TABELA 6, pode-se constatar que todas as dimensões das fibras são maiores entre 0% (base) e 25%, enquanto as menores dimensões são encontradas a 75% e 100% da altura comercial. Os valores de espessura de parede não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

As relações entre as dimensões das fibras e as posições em altura estudadas são apresentadas na TABELA 7.

Verificou-se uma tendência crescente entre Índice de Runkel e Fração Parede até 75% da altura.

Os maiores valores de Índice de Runkel, Fração Parede e Índice de Enfeltramento foram observados nas posições mais altas do tronco. Esses dados concordam com aqueles encontrados por Shimoyama (1990) para Índice de Runkel. Entretanto, os valores encontrados pela autora para Índice de Enfeltramento foram ligeiramente superiores a 25% da altura comercial.

TABELA 6 – Resultados do teste de Tukey para as dimensões das fibras de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição em altura.

Altura (%)	Comprimento (µm)	Diâmetro Tangencial (µm)	Lume (µm)	Parede (µm)
0 (base)	920,83 ^{bca}	19,47 ^a	11,99 ^a	3,73 ^a
25	981,09 ^a	19,87 ^a	11,88 ^{ba}	3,99 ^a
50	957,77 ^{ba}	19,26 ^{ba}	11,52 ^{bac}	3,87 ^a
75	888,18 ^c	18,60 ^{ba}	10,62 ^b	3,98 ^a
100	901,50 ^{bc}	17,93 ^b	10,92 ^c	3,75 ^a

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

TABELA 7 – Resultados dos Índices calculados entre as dimensões das fibras com as posições em altura.

Relação	Altura (%)				
	0	25	50	75	100
Índice de Runkel	0,62	0,67	0,67	0,75	0,72
Fração Parede (%)	38,42	40,26	–	42,90	41,83
Índice de Enfeltramento (%)	47,25	49,37	49,74	47,74	50,25
Coef. de Flexibilidade (%)	61,58	59,79	59,81	57,10	58,17

4.2.3 Posição radial

As dimensões das fibras, em relação ao posicionamento na direção radial do tronco, são crescentes no sentido da medula para a casca, com diferenças significativas, estatisticamente,

para comprimento e diâmetro tangencial (TABELA 8).

Os valores de comprimento de fibra maiores na região mais próxima ao câmbio são uma tendência muito aceita, conforme mencionado na revisão bibliográfica desse trabalho.

TABELA 8 – Resultados do teste de Tukey para as dimensões das fibras de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – variação radial.

Posição Radial	Comprimento (µm)	Diâmetro Tangencial (µm)	Lume (µm)	Parede (µm)
Medula	800,50 ^c	18,08 ^c	10,32 ^b	3,88 ^a
Intermediária	944,15 ^b	19,15 ^b	11,57 ^a	3,78 ^a
Casca	1080,84 ^a	20,33 ^a	12,36 ^a	3,98 ^a

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

4.3 Vasos

4.3.1 Classe sociológica

Os valores das dimensões dos vasos relativos as classes sociológicas estão apresentados na TABELA 9.

Conforme pode ser observado na TABELA 9, a única dimensão que apresenta tendência crescente é o diâmetro tangencial, com diferenças estatisticamente significativas. Tendência semelhante também foi observada por Florsheim *et al.* (2000) para *E. saligna*.

Maiores diâmetros tangenciais dos vasos, normalmente estão associados a menores frequências (Bamber *et al.*, 1982; Vital & Della Lucia, 1987), embora nos resultados encontrados neste estudo se pode observar que a classe dominante apresenta o maior diâmetro tangencial dos vasos, e a menor frequência de vasos por mm² foi observada na classe intermediária, diferindo estatisticamente das outras classes.

TABELA 9 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos vasos de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição sociológica.

Classe sociológica	Comprimento (µm)	Diâmetro tangencial (µm)	Frequência (vasos/mm ²)
Dominada	569,07 ^a	84,24 ^c	16,80 ^a
Intermediária	604,99 ^a	105,26 ^b	12,06 ^c
Dominante	577,12 ^a	110,84 ^a	14,19 ^b

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

4.3.2 Posição em altura

Observando-se a TABELA 10, pode-se constatar que os maiores comprimentos dos vasos foram encontrados a 25% da altura comercial, diferindo estatisticamente das outras posições. A partir dessa altura, os vasos diminuem em seu comprimento em direção ao topo da árvore. Os menores valores foram observados na base.

Os diâmetros tangenciais não apresentaram uma tendência clara de variação em relação à altura. O maior valor foi observado a 75% e o menor na base, sendo este último o único a apresentar diferença estatisticamente significativa entre as demais posições (TABELA 8). Diferentemente do esperado, os vasos de maiores diâmetros apresentaram-se mais frequentes.

TABELA 10 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos vasos de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição em altura.

Altura (%)	Comprimento (μm)	Diâmetro tangencial (μm)	Frequência (vasos/ mm^2)
0 (base)	499,92 ^c	90,11 ^b	16,16 ^a
25	638,85 ^a	101,43 ^a	12,40 ^b
50	614,87 ^{ba}	99,60 ^a	13,58 ^b
75	577,50 ^b	105,58 ^a	13,21 ^b
100	589,42 ^{ba}	102,86 ^a	17,43 ^a

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

4.3.3 Posição radial

Na posição radial os valores de comprimento e diâmetro tangencial dos vasos foram crescentes da medula para a casca e observou-se tendência inversa para frequência de vasos por mm^2 (TABELA 11).

Todas as dimensões apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Os valores encontrados estão distribuídos em tendências já preconizadas por vários autores citados na revisão bibliográfica deste trabalho.

TABELA 11 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos vasos de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição radial.

Posição radial	Comprimento (μm)	Diâmetro tangencial (μm)	Frequência (vasos/ mm^2)
Medula	500,59 ^c	78,93 ^c	18,70 ^a
Intermediária	592,43 ^b	105,34 ^b	13,03 ^b
Casca	676,78 ^a	117,57 ^a	11,07 ^c

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

4.4 Raios

4.4.1 Posição sociológica

A TABELA 12 apresenta as dimensões dos raios relacionadas com as classes sociológicas estudadas.

Na classe dominante foram encontrados os maiores valores para altura (em μm e em número de células) e largura em μm , todos eles

com diferenças estatisticamente significativas entre as outras classes sociológicas. As outras duas dimensões, largura em número de células e frequência por milímetro, foram maiores na classe dominada.

Estudando *E. saligna*, Florsheim *et al.* (2000) verificaram os maiores valores para todas as dimensões de raios na árvore dominante.

TABELA 12 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos raios de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição sociológica.

Classe Sociológica	Altura (μm)	Altura (n ^o células)	Largura (μm)	Largura (n ^o células)	Frequência (raios/mm)
Dominada	195,83 ^b	11,11 ^b	12,51 ^b	1,09 ^a	10,76 ^a
Intermediária	181,10 ^c	10,86 ^b	12,65 ^b	1,04 ^a	9,45 ^b
Dominante	230,34 ^a	13,22 ^a	13,67 ^a	1,01 ^a	9,88 ^{ba}

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

4.4.2 Posição em altura

As dimensões do parênquima radial, relacionadas com a posição em altura estão apresentadas na TABELA 13.

Não existe uma tendência entre os valores das dimensões dos raios. Altura em micrômetro e largura dos raios em número de células variaram, sem, no entanto, apresentarem diferenças estatisticamente significativas. Os raios mais largos (μm) foram observados a 50% da altura comercial.

4.4.3 Posição radial

Na TABELA 14 são apresentados os valores das dimensões dos raios, relacionados com a posição radial, onde se percebe que todos os maiores valores foram observados na região da medula, com diferenças estatísticas significativas, principalmente para altura dos raios em número de células.

TABELA 13 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos raios de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição em altura.

Posição em altura (%)	Altura (μm)	Altura (células)	Largura (μm)	Largura (células)	Frequência (raios/mm)
0	205,76 ^a	11,64 ^{ba}	13,63 ^b	1,10 ^a	10,51 ^{ba}
25	197,07 ^a	11,19 ^b	12,65 ^c	1,01 ^a	10,48 ^{ba}
50	212,49 ^a	12,22 ^{ba}	14,48 ^a	1,02 ^a	8,45 ^c
75	191,76 ^a	11,14 ^b	12,09 ^{dc}	1,00 ^a	9,63 ^{bc}
100	205,05 ^a	12,58 ^a	12,53 ^d	1,12 ^a	11,51 ^a

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

TABELA 14 – Resultado do teste de Tukey para as dimensões dos raios de *Eucalyptus grandis* aos sete anos – posição radial.

Posição radial	Altura (μm)	Altura (células)	Largura (μm)	Largura (células)	Frequência (raios/mm)
Medula	203,26 ^a	12,97 ^a	13,64 ^a	1,07 ^a	11,13 ^a
Intermediária	201,74 ^a	11,58 ^b	12,53 ^b	1,03 ^a	9,76 ^b
Casca	201,84 ^a	12,60 ^c	12,60 ^b	1,04 ^a	9,13 ^b

Obs.: médias seguidas da mesma letra não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a árvore dominante apresentou: fibras 13,9% mais longas do que a árvore dominada e 4,6% mais longas do que a árvore intermediária; parede das fibras 16,5% mais espessas do que a dominada e 10,8% mais espessas que a intermediária;

diâmetro de vasos 31,6% mais largos que a dominada e 5,3% mais largos que a intermediária; raios 17,6% mais altos que a dominada e 27,2% do que a intermediária e 9,3% mais largos que a dominada e 8,1% mais largo que a intermediária; fração parede de 46,52%, podendo ser caracterizada como produtora de celulose de baixa qualidade em relação ao rasgo e pouca resistência à tração do papel;

ROCHA, F. T.; FLORSHEIM, S. M. B.; COUTO, H. T. Z. do. Variação das dimensões dos elementos anatômicos da madeira de árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden aos sete anos.

- na avaliação axial (base-topo das árvores) os maiores valores das dimensões das fibras foram observados entre 0 e 25% da altura comercial; os maiores comprimentos de vaso e a menor frequência foram encontrados a 25% da altura comercial; os vasos mais largos foram verificados a 75% da altura comercial; os raios mais altos e mais largos foram encontrados a 50%, enquanto os mais frequentes a 100% da altura comercial; maiores valores de Índice de Runkel e fração parede foram observados nas posições mais altas do tronco (50, 75 e 100%), e
- na direção radial (medula-casca) todas as dimensões das fibras apresentaram tendência crescente; nos vasos a tendência crescente foi observada para comprimento e diâmetro tangencial e, decrescente para frequência; os maiores valores das dimensões dos raios foram verificados na região da medula e a frequência apresentou tendência decrescente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAMBER, R. K.; HORNE, R.; GRAHAN-HIGGS, A. Effect of fast growth on the wood properties of *Eucalyptus grandis*. **Australian Forest Research**, Melbourne, n. 12, p. 163-167, 1982.
- _____.; HUMPHREY, F. R. A preliminary study of some wood properties of *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. **Journal of the Institute of Wood Science**, Buckinghamshire, v. 11, n. 1, p. 66-70, 1963.
- BANKS, C. H. The mechanical properties of timber with reference to those grown in the Union of South Africa. **South African Forest Journal**, Menlo Park, v. 24, p. 44-65, 1954.
- BHAT, K. M.; BHAT, K. V.; DHAMODARAN, T. K. Wood density and fibre length of *Eucalyptus grandis* grown in Kerala, India. **Wood and Fibre Science**, Kansas, v. 22, n. 1, p. 54-61, 1990.
- BAPTISTA, V. R.; CARNEIRO TOMAZELLO, M. G.; TOMAZELLO FILHO, M. **Caracterização da madeira de eucaliptos**: anatomia, densidade básica e densitometria de raios X. Disponível em: <<http://143.107.70.222/informa/floresta.html>>. Acesso em: 19 ago. 2003.
- BISSET, I. J. W.; DADWELL, H. E. The variation of fibre length within one tree of *Eucalyptus regnans*. **Australian Forestry**, Melbourne, v. 13, n. 2, p. 81-96, 1949.
- BRASIL, M. A. M.; FERREIRA, M. Variação da densidade básica da madeira e das características das fibras em *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden ao nível do DAP – análise preliminar. **IPEF**, Piracicaba, n. 5, p. 81-90, 1972.
- BRITO, J. O; BARRICHELO, L. E. G.; FERREIRA, M. O melhoramento dos caracteres da madeira frente a produção de celulose e papel. **IPEF Boletim Informativo**, Piracicaba, v. 6, n. 19, p. 96-115, 1976.
- BUSNARDO, C. A. *et al.* Estudo comparativo da qualidade da madeira de algumas espécies de eucaliptos tropicais. In: CONGRESSO ANUAL ABCP, 11., 1978, São Paulo. São Paulo: Associação Brasileira de Celulose e Papel - ABCP, 1978. p. 191-197.
- COMISSÃO PANAMERICANA DE NORMAS TÉCNICAS - COPANT. **Madeiras, descrição macroscópica, microscópica e geral da madeira**; angiospermas, dicotiledôneas. Rio de Janeiro, 1974. 15 p.
- DAVIDSON, J. **Variation, association and inheritance of morphological and wood characters in a improvement programe for *Eucalyptus deglupta***. 1972. 263 f. Thesis (PhD) - Australian National University, Canberra.
- DOWNES, G. M. *et al.* **Sampling plantation eucalypts for wood and fibre properties**. Australia: CSIRO Publishing, 1997. 132 p.
- FLORSHEIM, S. M. B. *et al.* Variação da estrutura anatômica da madeira de *Eucalyptus saligna* aos 7 anos. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 179-191, 2000.
- FOECKEL, C. E.; BARRICHELO, L. E. G. **Tecnologia de celulose e papel**. Piracicaba: USP-ESALQ-CALQ, 1975. 207 p.
- IAWA COMMITTEE. List microscope features of hardwood identification. **IAWA Bulletin**, Leiden, v. 10, n. 3, p. 221-259, 1989.

ROCHA, F. T.; FLORSHEIM, S. M. B.; COUTO, H. T. Z. do. Variação das dimensões dos elementos anatômicos da madeira de árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden aos sete anos.

JESUS, R. M.; VITAL, B. R. Comparação entre densidade de matrizes e de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 10, n. 1, p. 82-90, 1986.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechniques**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

MALAN, F. S. Variation, association and inheritance of juvenile wood properties of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden with special reference to the effect of rate of growth. **South African Forestry Journal**, Menlo Park, v. 157, p.16-23. 1991.

_____.; GERISCHER, G. E. R. Wood property differences in South African grown *Eucalyptus grandis* trees of different growth stress intensity. **Holzforschung**, Berlin, v. 41, p. 331-335, 1987.

NAHUZ, M. A. R. (Coord.). **Madeiras: material para o design**. São Paulo: Páginas & Letras, 1997. 63 p.

OLIVEIRA, J. I. S. *et al.* Caracterização da madeira de sete espécies de eucaliptos para construção civil: 1- avaliação dendométrica das árvores. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 56, p. 113-124, 1999.

PAULA, J. E. Caracterização anatômica de madeiras nativas do cerrado com vistas à produção de madeira. **Revista Cerne**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 26-40, 1999.

RECORD, S. J.; HESS, R. W. **Timbers of the new world**. New Haven: Yale University Press, 1949. 640 p.

REZENDE, M. A.; SAGLIETTI, J. R.; CHAVES, R. Variação da massa específica da madeira de *Eucalyptus grandis* aos 8 anos de idade em função de diferentes níveis de produtividade. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 71-78, 1998.

SCURFIELD, G. Structural features of hardwood and their influence on paper properties. **TAPPI**, Atlanta, v. 59, n. 7, p. 110-113, 1976.

SHIMOYAMA, V. R. S. **Variações da densidade básica e características anatômicas e químicas da madeira em *Eucalyptus* spp.** 1990. 93 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Madeira) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

TAYLOR, F. W. Variation in the anatomical properties of South African grown *Eucalyptus grandis*. **APPITA Journal**, Victoria, v. 27, p. 171-178, 1973.

TOMAZELLO FILHO, M. **Variação radial dos constituintes anatômicos e da densidade básica da madeira de oito espécies de eucalipto**. Piracicaba: ESALQ/LCF, 1983. 99 p. (Convênio IPEF/CIA. SUZANO DE PAPEL E CELULOSE/ DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA – ESALQ/USP). (Relatório Final).

VITAL, B. R.; DELLA LUCIA, R. M. Effect of tree spacing on wood production and wood quality of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* at 52 months. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 11, p. 132-145, 1987.

ZOBEL, B. J.; BUIJTENEN, J. P. van. **Wood variation: it's causes and control**. Berlin: Springer Verlag, 1989. 363 p. (Spring Series in Wood Science).

HERANÇA GENÉTICA E DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO EM LOCOS DE ISOENZIMAS EM *Esenbeckia leiocarpa**

Carlos Eduardo Sícole SEOANE**

Alexandre Magno SEBBENN***

RESUMO

Oito sistemas enzimáticos (EST, IDH, PGM, PGI, MDH, PER, 6PGDH e SKDH) codificando nove locos foram investigados em *Esenbeckia leiocarpa*. Quatro sistemas isoenzimáticos foram monomórficos (IDH, PGM, 6PGDH e SKDH) e quatro polimórficos (EST, PGI, MDH e PER). A herança mendeliana foi confirmada para quatro locos, pelo teste de ajuste dos padrões de segregação observados em relação à razão de segregação esperada 1:1, em progênies de árvores heterozigotas. O desequilíbrio de ligação foi examinado para dez pares de locos. Apenas um simples par de locos parece estar em desequilíbrio de ligação, *Est-1:Prx-1*.

Palavras-chave: segregação; guarantã; espécies arbóreas tropicais.

ABSTRACT

Eight enzymes systems (EST, IDH, PGM, PGI, MDH, PER, 6PGDH and SKDH) coding for nine loci were investigate in *Esenbeckia leiocarpa*. Four allozyme systems were monomorphic (IDH, PGM, 6PGDH and SKDH) and four polymorphic (EST, PGI, MDH and PER). Mendelian inheritance was confirmed for four loci by testing the fit of band-pattern to 1:1 expected segregation ratio in progeny from heterozygous trees. Linkage disequilibrium was examined for ten pair of allozymes loci. A simple pair of loci appears to be in linkage disequilibrium, *Est-1:Prx-1*.

Key words: segregation; guarantã; tropical tree species.

1 INTRODUÇÃO

Esenbeckia leiocarpa Engl. (guarantã) é uma espécie arbórea climática de ocorrência agregada e característica de floresta latifoliada primária. A espécie não tolera, quando jovem, insolação direta, razão pela qual não é encontrada em formações secundárias. Sua dispersão é restrita e descontínua, ocorrendo em frequência elevada somente em poucas áreas, na forma de reboleiras, que podem se estender por centenas de metros. Sua madeira é muito resistente e usada em obras externas como postes, dormentes, etc., e na construção civil para os mais diversos fins (Lorenzi, 1992).

O conhecimento do sistema de reprodução, estrutura e diversidade genética é de fundamental importância para o delineamento de estratégias para a conservação e o melhoramento genético de espécies arbóreas.

Tais informações podem ser eficientemente elucidadas com base em dados de marcadores bioquímicos. Contudo, para que essa classe de marcadores possa ser utilizada como marcadores genéticos é necessário, *a priori*, o conhecimento dos padrões de herança e associação entre alelos de diferentes locos (Furnier *et al.*, 1986; Gillet & Hattemer, 1989; Lewandowski *et al.*, 1992; Liu & Furnier, 1993; Pastorino & Gallo, 1998; Lewandowski, 2000).

O objetivo deste trabalho foi investigar a herança e o desequilíbrio de ligação em locos isoenzimáticos detectados em populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. O estudo foi realizado comparando a segregação de progênies de polinização aberta de genótipos maternos de árvores heterozigotas.

(*) Aceito para a publicação em maio de 2004.

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

(***) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: amsebbenn@bol.com.br

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem das Progênes

Sementes de polinização aberta foram coletadas em 20 árvores de duas populações naturais localizadas em dois fragmentos de *E. leiocarpa* do Estado de São Paulo: Estações Ecológicas de Caetetus (Latitude 22°22'S, Longitude 49°40'W) e Ibicatú (Latitude 22°47'S, Longitude 47°50'W). De cada árvore foram genotipadas, via eletroforese de isoenzimas, 20 sementes. O genótipo das árvores maternas foi determinado da composição genotípica de suas progênes, usando o método de máxima verossimilhança de Brown & Allard (1970), implementado no programa MLTR de Ritland (2002).

2.2 Eletroforese em Gel de Amido

As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de plântulas empregando-se, aproximadamente, 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP 40), 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-60) e 200 microlitros da solução de extração número 1 de Alfenas (1998), alterada pela ausência de Mercaptoetanol. A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de 2/3 de amido de milho (penetrose 30) a 13%, combinado com 1/3 de amido de batata (Sigma). As "corridas" foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C. O tampão de cuba e do gel utilizado foi o Citrato Morfolina (CM pH 6,1 – Clayton & Treiak, 1972). A lista das isoenzimas investigadas encontra-se na TABELA 1.

TABELA 1 – Sistemas enzimáticos estudados em *E. leiocarpa*.

Sistemas enzimáticos (Abreviações) Número E.C.	Locos detectados	Número de alelos detectados/loco
Fosfoglucomutase (PGM) E.C. 5.4.2.2	A	1
Fosfogluose isomerase (PGI) E.C. 5.3.1.9	B	2
Isocitrato desidrogenase (IDH) E.C. 1.1.1.42	A	1
Malato desidrogenase (MDH) E.C. 1.1.1.37	A C D	2 3 3
α -Esterase (α -EST) E.C. 3.1.1.1	A	4
6-Fosfogluconato desidrogenase (6PGDH) E.C. 1.1.1.44	A	2
Peroxidase (PER) E.C. 1.11.1.7	A	4
Xiquimato desidrogenase (SKDH) E.C. 1.1.1.25	A	1

2.3 Análise de Segregação

O estudo da herança isoenzimática em *E. leiocarpa* foi realizado com base no método descrito por Gillet & Hattemer (1989) que compara o genótipo de árvore materna com a segregação de suas progênes de polinização aberta. As seguintes condições devem ser satisfeitas: a) toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe, e b) em casos de uma árvore mãe heterozigota (ex. A_iA_j , $i \neq j$):

i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i ou A_j ; ii) o número de progênes heterozigotas A_iA_j (N_{ij}) deve ser igual a soma das progênes homozigotas A_iA_i (N_{ii}) A_jA_j (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$, e iii) o número de progênes heterozigotas A_iA_k (N_{ik}) deve ser igual ao número de progênes heterozigotas A_jA_k (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$. A análise genética foi realizada com 20 plantas de cada uma das 20 progênes de polinização aberta.

Os fenótipos observados em cada progênie das árvores maternas heterozigotas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. As hipóteses foram aceitas ou descartadas com base no teste G padrão. Os fenótipos observados em progênies das árvores heterozigotas do mesmo genótipo materno, sem desvios no teste de segregação individual, foram somados e um teste G agrupado foi obtido ($G_{1:1Agrupado}$). A hipótese nula deste teste é a de igual proporção dos tipos de gametas em progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. Em seguida, testou-se a hipótese de homogeneidade de segregação entre progênies, usando-se um teste G de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste de G agrupado ($G_{1:1Agrupado}$) da soma dos testes G individuais por progênies.

O teste de desequilíbrio de ligação foi realizado com base na medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows (Δ_{ij} , Weir, 1979), usando o programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999). A medida de desequilíbrio de ligação de Burrows é apropriada para situações onde a união de gametas não ocorreu de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta (Weir & Cockerham, 1979). A hipótese $H_0: \Delta_{ij} = 0$ foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2) descrito em Weir (1979). Os locos foram designados com letras e números e os alelos com números, em ordem decrescente de migração do anodo para o catodo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Locos Isoenzimáticos Monomórficos

Nas condições de eletroforese utilizadas no presente estudo os sistemas isoenzimáticos IDH, PGM, SKDH e 6PGDH revelaram apenas uma zona de atividade aparentemente monomórfica. Em diversos outros estudos dos padrões de herança e segregação de isoenzimas em espécies arbóreas têm sido observados mais de uma zona de atividade enzimática e polimorfismo nesses sistemas.

3.2 Padrões dos Locos Isoenzimáticos Polimórficos

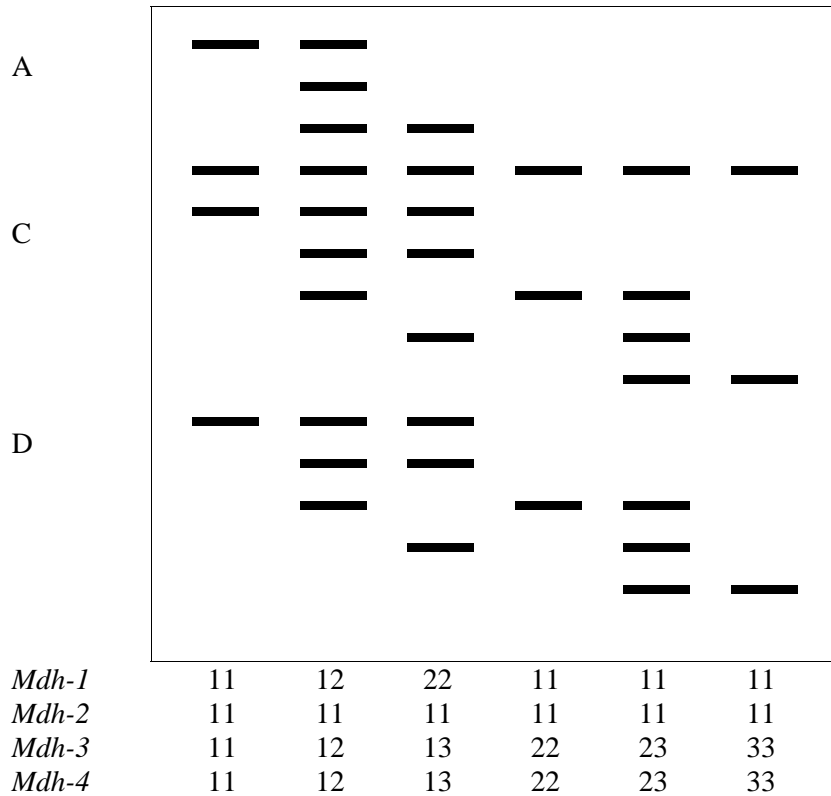
Alfa-Esterase (α -EST): o sistema α -EST apresentou uma simples zona de atividade denominada *Est-1* (FIGURA 1). A atividade enzimática nessa zona foi interpretada como um loco polimórfico segregando até quatro alelos. A observação do fenótipo de indivíduos heterozigotos indicou que essa enzima era monomérica.

Malato Desidrogenase (MDH): o sistema MDH apresentou quatro zonas de atividades. As zonas A (*Mdh-1*), C (*Mdh-3*) e D (*Mdh-4*) foram interpretadas como locos polimórficos, compostos por enzimas de expressão dimérica, segregando até três alelos por loco (FIGURA 1). A zona B (*Mdh-2*) apresentou-se como um loco monomórfico com um alelo fixado. Quatro zonas de atividade na enzima MDH também foram reportadas em *Pinus massoniana* Lamb. (Huang *et al.*, 1994) e *Pinus peuca* Griseb (Zhelev *et al.*, 2002).

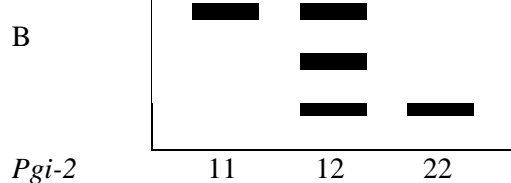
Fosfogluose Isomerase (PGI): o sistema PGI apresentou duas zonas de atividades. A zona de migração mais rápida, denominada loco *Pgi-1*, apresentou baixa qualidade de resolução e, por isso, foi descartada da análise genética. A zona de migração mais lenta (*Pgi-2*) foi interpretada como um loco polimórfico, controlado por uma enzima de expressão dimérica, segregando dois alelos (FIGURA 1). Praticamente a totalidade dos estudos com a enzima PGI, em espécies arbóreas, têm detectado duas zonas de atividade (Huang *et al.*, 1994; Wang & Lin, 1998; Lewandowski, 2000; Marchelli & Gallo, 2000; Pastorino & Gallo, 1998; Souza *et al.*, 2002).

Peroxidase (PER): o sistema PER apresentou apenas uma simples zona de atividade, interpretada como um loco polimórfico (*Per-1*) de expressão monomérica, segregando quatro alelos (FIGURA 1). Nesse sistema, em *Pinus thunbergii* Parl. (Shiraishi, 1988) e *Fagus sylvatica* L. (Müller-Starck & Starke, 1993) foram detectadas duas zonas de atividade nessa enzima, e em *Populus tremuloides* (Michx.), *Pinus nigra* L., *Pinus maximowiczii* Henry e *Pinus canadensis* Moench (Rajora & Dancik, 1992), até três zonas.

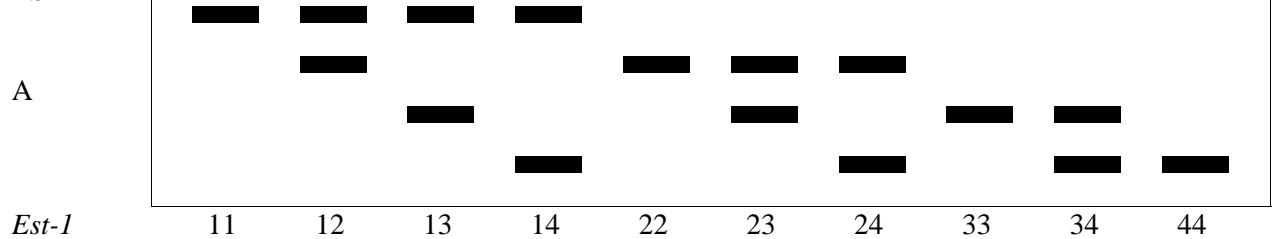
MDH



PGI



EST



PRX

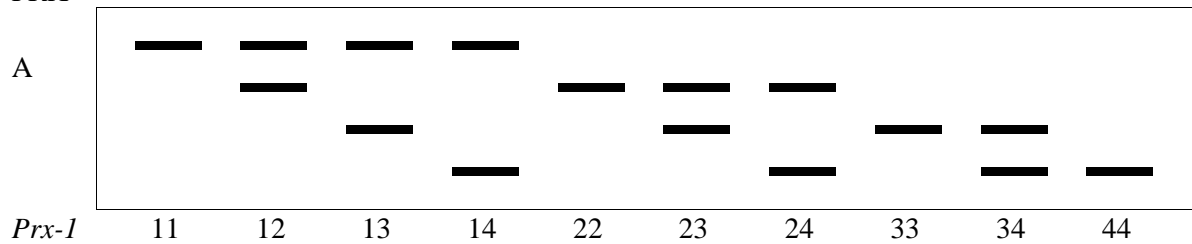


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *E. leiocarpa* nos sistemas EST, PGI, MDH e PER, juntamente com seus respectivos genótipos.

3.3 Padrões de Segregação e Desequilíbrio de Ligação

Não foram detectados fortes indícios de desvios de segregação nos locos isoenzimáticos estudados em *E. leiocarpa* (TABELA 2). Nos locos *Est-1* e *Mdh-3* não foram detectados desvios da razão de segregação esperada 1:1. A análise genética de progênies de árvores heterozigotas A_1A_2 , para o loco *Pgi-2*, rejeitou a hipótese de segregação 1:1 no teste G agrupado ($G_{Agrupado1:1}$), embora o teste de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$) indicou que a segregação foi homogênea entre as árvores. Assim, aparentemente os alelos do loco *Pgi-2* não estão segregando de acordo com a razão esperada 1:1.

Por outro lado, o loco *Mdh-4* rejeitou a hipótese de segregação no teste G de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$), mas não no teste agrupado, portanto não se rejeita a hipótese de segregação mendeliana esperada 1:1, embora exista variação no padrão de segregação entre progênies. No loco *Per-1*, três progênies de árvores heterozigotas A_1A_2 rejeitaram a hipótese de segregação 1:1 no teste agrupado ($G_{Agrupado1:1}$). Contudo, sete progênies de árvores heterozigóticas do tipo A_2A_3 , não rejeitaram a hipótese de segregação 1:1, para ambos os testes de qui-quadrado. Assim, não se rejeita a hipótese de segregação 1:1 no loco *Per-1*.

TABELA 2 – Teste para hipótese de segregação regular (teste G) de marcadores isoenzimáticos em *E. leiocarpa*.

Loco	Genótipo materno	Número de árvores (n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$N_{ik} : N_{jk}$	$\sum G_{Heterogeneidade}$ $GL = n - 1$	$G_{Agrupado1:1}$ $GL = 1$	Árvores com desvio de segregação
<i>Est-1</i>	A_1A_3	7	19:23	19:14	13,03£ ₁	1,14£ ₂	2
	A_2A_3	8	51:49	7:9	20,24£ ₁	0,29£ ₂	1
<i>Mdh-3</i>	A_1A_2	6	50:54	–	1,47	0,15	
<i>Mdh-4</i>	A_1A_3	2	0:37	0:3	47,13**£ ₁	4,16£ ₂	2
<i>Pgi-2</i>	A_1A_2	9	50:75	–	5,54	5,03*	2
<i>Per-1</i>	A_1A_2	5	6:22	–	0,19	9,72**	3
	A_2A_3	7	35:54	7:12	6,65£ ₁	5,42£ ₂	1

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente; N_{ik} e N_{jk} são os números observados dos genótipos heterozigotos do tipo ik e jk , respectivamente;

£₁, e £₂ têm $2(n-1)$ e 2 graus de liberdade, respectivamente;

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

Resumindo, com base nos resultados dos testes de qui-quadrado foram detectados desvios da razão de segregação 1:1 apenas no loco *Pgi-2*. Desvios de segregação têm sido detectados em vários locos isoenzimáticos de espécies arbóreas (Cheliak & Pitel, 1985; Shiraishi, 1988; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002). Diversas podem ser as causas dos desvios de segregação observados no loco *Pgi-2*, como as isoenzimas podem estar sob controle de mais de um loco, seleção, distorções meióticas, interações interalélicas, ligação com locos, possuindo alelos deletérios, erro amostral, erros de interpretação dos zimogramas nos géis (Cheliak & Pitel, 1985; Strauss & Conkle, 1986) e presença de alelos nulos (Gillet & Hatemer, 1989).

Dos dez possíveis pares de combinações entre locos, só foram detectados indícios significativos de desequilíbrio de ligação entre um par de locos: *Est-1:Per-1*. A medida composta de Burrows de desequilíbrio de ligação ($\hat{\Delta}_{ij}$) foi baixa, 0,053, embora tenha sido significativa ($\chi^2 = 9,53$, $P = 0,002$). Isso indica que os alelos desses locos estão associados e não segregam independentemente, de forma que um dos locos deve ser removido de análises que requeiram locos em equilíbrio gamético, como estudos do sistema de reprodução, análise de paternidade e estrutura genética populacional. Nos outros pares de locos não foram observados indícios de desequilíbrio de ligação.

4 CONCLUSÕES

O loco *Pgi-2* não segregou perfeitamente de acordo com as leis mendelianas. Os locos *Est-1:Per-1* não segregam de forma independente e é necessária a exclusão de um desses para análises genéticas que requeiram locos em equilíbrio gamético.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo financiamento do projeto, e à Assistente Técnica de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes, pela revisão gramatical do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicação em plantas e microorganismo.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574 p.

BROWN, A. H. D.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphisms. **Genetics**, Washington, D.C., v. 66, p. 133-145, 1970.

CHELIAK, W. M.; PITEL, J. A. Inheritance and linkage of allozymes in *Larix laricina*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 34, p. 142-148, 1985.

CLAYTON, J.; TRETIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, Ottawa, v. 29, p. 1169-1172, 1972.

FURNIER, G. R. *et al.* Inheritance and linkage of allozymes in seed tissues of whitwark pine. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 28, p. 601-604, 1986.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.

HUANG, Q. Q. *et al.* Genetic control of isozyme variation in Masson Pine, *Pinus massoniana* Lamb. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 43, p. 285-292, 1994.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 25-37, 2001.

LEWANDOWSKI, A. Inheritance and linkage of some allozymes in *Pinus armandii* Franch. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 79-82, 2000.

_____; BURCZYK, J.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance and linkage of some allozymes in *Taxus baccata* L. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 41, p. 342-347, 1992.

LIU, Z.; FURNIER, G. R. Inheritance and linkage of allozymes and restriction fragment length polymorphisms in Trembling Aspen. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, p. 419-424, 1993.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 302 p.

MARCHELLI, P.; GALLO, L. A. Genetic analysis of isozymes variants in open-pollinated families of southern beech (*Nothofagus nervosa* (Phill.) Dim. et Mil. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 90-98, 2000.

MÜLLER-STARCK, G.; STARKE, R. Inheritance of isoenzymes in European Beech (*Fagus sylvatica* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 84, p. 291-296, 1993.

PASTORINO, M. J.; GALLO, L. A. Inheritance of isozyme variants in *Astrocedrus chilensis* (D. Do) Florin et Boutelje. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 15-20, 1998.

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

RAJORA, O. P.; DANCİK, B. P. Allozyme variation and inheritance in leaves of *Populus deltoides*, *P. nigra*, *P. maximowiczii* and *P. x canadensis* in comparison to those in root tips. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 41, p. 289-292, 1992.

SHIRAIISHI, S. Inheritance of isozymes variation in Japanese Black Pine, *Pinus thunbergii* Parl. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 93-100, 1988.

SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 191-196, 2002.

SEOANE, C. E. S.; SEBBENN, A. M. Herança genética e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas em *Esenbeckia leiocarpa*.

STRAUSS, S. H.; CONKLE, M. T. Segregation, linkage and diversity of allozymes in knobcone pine. **Theor. Appl. Genet.**, Berlin, v. 72, p. 483-493, 1986.

WANG, C. T.; LIN, T. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme, and estimation of outcrossing rate in a seed orchard of *Cunninghamia konishii* Hay. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 33-37, 1998.

WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Lawrence, v. 35, p. 235-354, 1979.

_____.; COCKERHAM, C. C. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity**, Lund, v. 43, p. 105-111, 1979.

YEH, F. C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis. Edmonton: University of Alberta, 1999. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2004.

ZHELEV, P.; GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Inheritance and linkage of allozymes in a Balkan endemic, *Pinus peuce* Griseb. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 93, p. 60-62, 2002.

HERANÇA E LIGAÇÃO EM LOCOS DE ISOENZIMAS EM *Genipa americana* L.*

Alexandre Magno SEBBENN**

RESUMO

A herança e a ligação foram estudadas em quatro locos polimórficos (*6pgdh-1*, *Pgi-2*, *Mdh-1* e *Mdh-2*) de três sistemas isoenzimáticos de *Genipa americana*, analisados por eletroforese horizontal em gel de amido, usando tecidos coletados de quinze progênies de polinização aberta, procedentes de Moji-Guaçu, Estado de São Paulo. Esses locos segregaram de dois a três alelos. A segregação nesses locos foi homogênea entre árvores. Contudo, existem desvios significativos da segregação esperada 1:1 para algumas árvores em alguns locos. Desvios significativos da razão de segregação esperada 1:1 foram detectados nos locos *Mdh-2* e *6pgdh-1*. Não foram detectadas evidências de ligação entre nenhum dos pares de locos avaliados em *G. americana* e esses podem ser utilizados sem restrição para estudos do sistema de reprodução, diversidade e estrutura genética de populações da espécie.

Palavras-chave: segregação; jenipapo; espécies arbóreas tropicais.

1 INTRODUÇÃO

A técnica de eletroforese de isoenzimas tem sido amplamente aplicada em estudos de melhoramento (Adams & Joly, 1980) e conservação genética florestal. A técnica tem grande poder para estudos de introgressão, sistema de reprodução, diversidade e estrutura genética, mapeamento genômico e análise da relação filogenética entre espécies (Lewandowski, 2000). Algumas dessas aplicações requerem que o modo de herança e a relação de equilíbrio de ligação entre as isoenzimas sejam conhecidos (Gillet & Hattemer, 1989; Lewandowski *et al.*, 1992; Thorsén *et al.*, 1997). Entretanto, para que os marcadores bioquímicos sejam utilizados como marcadores genéticos é necessário que sua herança genética mendeliana seja confirmada (Muona *et al.*, 1987;

ABSTRACT

Inheritance and linkage for four polymorphic loci (*6pgdh-1*, *Pgi-2*, *Mdh-1* and *Mdh-2*) from three enzyme systems in *Genipa americana* were analyzed by horizontal starch gel electrophoresis using tissues collected from fifty open-pollinated families in Moji-Guaçu, São Paulo State. These allozyme loci have segregated from two to four alleles per polymorphic locus. Gene segregation on those loci was homogeneous among trees. However, there were significant deviations from the expected segregation ratios on some loci and some individual trees. In addition, *Mdh-2* and *6pgdh-1* loci have shown significant deviations from the 1:1 expected segregation ratio. Linkage disequilibrium evidences were not detected between any two pairs of loci from *G. americana* and those can be used with no restriction to study the mating system, genetic diversity, and genetic structure on the species.

Key words: segregation; jenipapo; tropical tree species.

Thorsén *et al.*, 1997; Wang & Lin, 1998). Tais estudos têm sido especialmente conduzidos em coníferas (Papageorgious *et al.*, 1993; Lewandowski, 2000). Contudo, infelizmente, poucas espécies arbóreas folhosas têm sido submetidas a essas análises.

O objetivo deste trabalho foi investigar a herança e o desequilíbrio de ligação em quatro locos isoenzimáticos polimórficos revelados em uma população de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) procedente de Moji-Guaçu, Estado de São Paulo. *G. americana* é uma espécie arbórea tropical dióica, polinizada por insetos e de distribuição ampla, que vai do México (20°N) ao Estado de São Paulo (20°S). Sua madeira é de grande utilidade na carpintaria, construção civil, indústria de móveis, etc., e os frutos são comestíveis e medicinais, entre outras utilidades da espécie (Carvalho, 1994).

(*) Aceito para a publicação em maio de 2004.

(**) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: amsebbenn@bol.com.br

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Os estudos da herança e ligação foram realizados a partir da coleta de sementes de polinização aberta e tecidos foliares de quinze árvores de *G. americana* de uma população natural localizada em floresta mesófila semidecídua de planalto, na Estação Ecológica de Moji-Guaçu, do Instituto Florestal de São Paulo.

2.2 Eletroforese de Isoenzimas

As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de quinze árvores adultas e vinte plântulas de cada progênie, empregando-se, aproximadamente, 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP 40), 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-60) e 200 microlitros da solução de extração número 1 de Alfenas (1998), alterada pela ausência de Mercaptoetanol. A eletroforese de isoenzimas foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%.

As “corridas” foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C. Nos primeiros 30 minutos de “corrida”, mantinha-se a corrente elétrica constante a 35mA, sendo, posteriormente, elevada a 40mA até o final do processo. A voltagem nos eletrodos foi de 120 a 180 volts, e no gel, de seis a oito volts nos primeiros 30 minutos, e 140 a 210 volts e oito a dez volts, nos eletrodos e no gel, respectivamente, no restante do tempo de “corrida”. As amostras embebidas em papel-de-filtro eram retiradas dos géis após 30 minutos de migração, sendo que o tempo médio do processo de “corrida” era de aproximadamente 8 horas e 30 minutos. Nesse ponto, o marcador azul de bromofenol atingia de 7 cm a 8 cm de migração. Terminada a “corrida”, o gel era cortado em seis fatias, com espessura em torno de 1,0 mm, sendo que a primeira e a última fatia eram descartadas. As quatro faces restantes eram submetidas à coloração em enzimas específicas. Os sistemas isoenzimáticos PGM, PGI e 6PGDH foram revelados sempre utilizando fatias mais nobres (as duas primeiras). A lista das isoenzimas investigadas encontra-se na TABELA 1.

TABELA 1 – Sistemas enzimáticos investigados para herança em *G. americana*.

Sistemas enzimáticos (Abreviações) Número E.C.	Locos detectados	Número de alelos detectados/loco
Fosfoglucomutase (PGM) E.C. 5.4.2.2	1	1
6-Fosfogluconato desidrogenase (6PGDH) E.C. 1.1.1.44	1	3
Fosfogluose isomerase (PGI) E.C. 5.3.1.9	1	1
	2	2
Malato desidrogenase (MDH) E.C. 1.1.1.37	1	2
	2	2
	3	1
Peroxidase (PER) E.C. 1.11.1.7	1	1

2.3 Análise de Segregação

Não foram realizados cruzamentos controlados para o estudo da herança isoenzimática em *G. americana*. Adotou-se o método descrito por Gillet & Hattemer (1989) que compara o genótipo de árvore materna com a segregação de suas progênies de polinização aberta. As seguintes condições devem ser satisfeitas: a) toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe, e

b) em casos de uma árvore mãe heterozigota (ex. A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i ou A_j ; ii) o número de progênies heterozigotas A_iA_j (N_{ij}) deve ser igual a soma das progênies homozigotas A_iA_i (N_{ii}) e A_jA_j (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$, e iii) o número de progênies heterozigotas A_iA_k (N_{ik}) deve ser igual ao número de progênies heterozigotas A_jA_k (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$.

A análise genética foi realizada da seguinte forma: os fenótipos observados em cada progênie das árvores maternas heterozigotas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. A hipótese foi aceita ou descartada com base em um teste G padrão. Posteriormente, todos os testes G foram somados e um teste G total para a segregação 1:1 foi obtido ($\sum G_{Hipótes1:1}$). Simultaneamente, os fenótipos observados, de progênies de árvores heterozigotas do mesmo genótipo materno, foram somados e um teste G agrupado foi obtido ($G_{1:1Agrupado}$). A hipótese nula desse teste é a de igual proporção dos tipos de gametas na progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. A seguir, testou-se a hipótese de homogeneidade de segregação entre progênies, usando-se um teste G de heterogeneidade ($\sum G_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste G agrupado ($G_{1:1Agrupado}$), do teste G total ($\sum G_{Hipótes1:1}$). Esses testes são aditivos de forma que $\sum G_{Hipótes1:1} = \sum G_{Heterogeneidade} + G_{1:1Agrupado}$, com n , $n-1$ e 1 grau de liberdade, respectivamente (Souza *et al.*, 2002). Se o teste de heterogeneidade era significativo, progênies de árvores heterozigotas, que apresentaram desvio da segregação 1:1, foram excluídas do conjunto de dados e as análises foram repetidas. No presente estudo, os locos e os alelos foram identificados por números, em ordem decrescente de migração do anodo para o catodo.

2.4 Análise de Desequilíbrio de Ligação

Como existem indícios de endogamia na população de *G. americana* aqui estudada (Sebbenn *et al.*, 1998), o teste de desequilíbrio de ligação foi realizado com base na medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows (Δ_{ij} , Weir, 1979), usando o programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999). A medida de desequilíbrio de ligação de Burrows é apropriada para situações onde a união de gametas não ocorreu de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta

(Weir, 1979; Weir & Cockerham, 1979). A hipótese $H_0 : \Delta_{ij} = 0$ foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2) proposto por Weir (1979).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Padrões Isoenzimáticos

Os sistemas PGM e PRX expressaram somente uma simples banda monomórfica nos géis, sugerindo a existência de apenas um loco com um alelo fixado, assim não foi possível determinar seus padrões de herança e desequilíbrio de ligação. A seguir são descritos os padrões de herança, segregação e desequilíbrio de ligação das isoenzimas polimórficas (PGI, MDH e 6PGDH) detectadas em *G. americana*.

Fosfoglucoase Isomerase (PGI)

O sistema PGI apresentou duas zonas de atividades (FIGURA 1). A zona de migração mais rápida apresentou uma só banda em todos géis, nas condições de laboratório usadas, e foi interpretada como um loco monomórfico (*Pgi-1*) com um alelo fixado. A segunda zona de atividade (*Pgi-2*) apresentou polimorfismo, segregando dois alelos. A observação do fenótipo de indivíduos heterozigotos indicou tratar-se de uma enzima dimérica. No sistema PGI, duas zonas de atividade têm sido observadas em diversos estudos com espécies arbóreas (King & Dancik, 1983; Lewandowski *et al.*, 1992; Wang & Lin, 1998; Lewandowski, 2000; Pastorino & Gallo, 2001; Hussendörfer *et al.*, 1995).

Malato Desidrogenase (MDH)

O sistema MDH apresentou três zonas de atividades. As duas zonas de migração mais rápidas (*Mdh-1* e *Mdh-2*) eram polimórficas e segregavam dois alelos. A zona mais lenta era monomórfica (*Mdh-3*). O fenótipo de árvores heterozigotas apresentava três bandas, sugerindo que a enzima era dimérica (FIGURA 1).

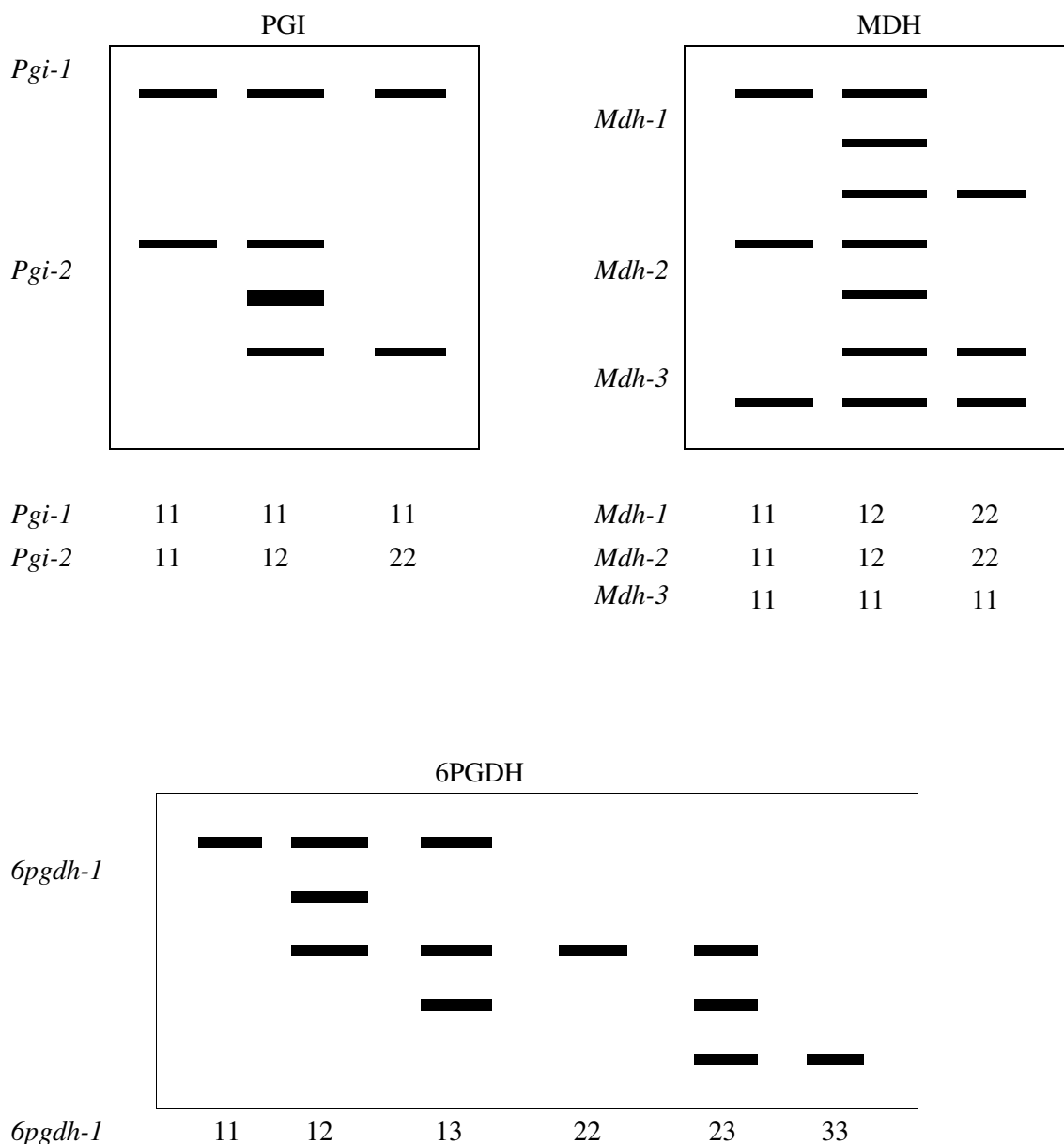


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *G. americana* nos sistemas PGI, MDH e 6PGDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

Fosfogluconato Desidrogenase (6PGDH)

O sistema 6PGDH apresentou apenas uma zona de atividade, denominada loco *6Pgdh-1* e interpretado como um loco monomérico, segregando três alelos (FIGURA 1). Um loco no sistema 6PGDH também foi observado em *P. taeda* (Adams & Joly, 1980), embora outros estudos tenham detectado duas zonas de atividade nessa enzima (Konnert *et al.*, 2001;

Sousa *et al.*, 2002; Zhelev *et al.*, 2002). Em *Pinus massoniana* Lamb., Huang *et al.* (1994) observaram padrão fenotípico de indivíduos heterozigotos típicos de enzima monomérica. Porém, em espécies como *Cunninghamia lanceolata* Hook. (Müller-Starck & Liu, 1988), *Thuja occidentalis* L. (Perry & Knowles, 1989) e *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. (Sousa *et al.*, 2002), o heterozigoto tem apresentado fenótipo de enzima dimérica.

3.2 Padrões de Segregação

Não foram detectados indícios de heterogeneidade de segregação entre progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno para os locos avaliados. O teste G de heterogeneidade ($\sum G_{\text{Heterogeneidade}}$) não detectou diferenças significativas para os locos *Pgi-2*, *Mdh-2* e *6pgdh-1*, indicando que a segregação é homogênea em progênies de diferentes árvores de mesmo genótipo materno (TABELA 3). O loco *Pgi-2* apresentou desvio significativo da hipótese de segregação 1:1, no teste G total ($\sum G_{\text{Hipótese 1:1}}$) e agrupado ($G_{1:1\text{Agrupado}}$), mas ajuste quando a progênie da única árvore apresentando desvios significativos de segregação foi excluída da análise (TABELA 3).

A análise da progênie da única árvore heterozigota detectada no loco *Mdh-1* não revelou desvios da segregação esperada 1:1. Contudo, é desejável que esse loco tenha sua herança estudada com base em um número maior de progênies de árvores heterozigóticas ou com base em um número grande de descendentes (150 indivíduos) da referida árvore, para obter-se uma conclusão mais consistente. Nos locos *Mdh-2* e *6pgdh-1*, foram detectados desvios significativos da razão esperada de segregação 1:1

nos testes G total ($\sum G_{\text{Hipótese 1:1}}$) e agrupado ($G_{1:1\text{Agrupado}}$), devido ao excesso de homozigotos, como pode ser observado pela relação $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$ (TABELA 3). No entanto, quando progênies de árvores heterozigóticas, apresentando desvios significativos da razão de segregação 1:1 (TABELA 2), foram excluídas da análise, o loco *6pgdh-1* ajustou-se à hipótese de segregação 1:1, no teste G total, mas rejeitou a hipótese no teste agrupado. Assim, admite-se a possibilidade de que ambos os locos *Mdh-2* e *6pgdh-1* apresentam desvios da razão de segregação mendeliana 1:1. Desvios de segregação têm sido observados em diversos estudos da herança isoenzimática de espécies arbóreas (Adams & Joly, 1980; Cheliak & Pitel, 1985; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002). As causas podem ser várias, como as isoenzimas estarem sob controle de mais de um loco, seleção, distorções meióticas, interações interalélicas e deriva genética (Adams & Joly, 1980; Cheliak & Pitel, 1985). Outra causa pode ser a presença de alelos nulos (Gillet & Hattemer, 1989). Os desvios observados podem incluir uma ou mais dessas causas, mas é difícil determinar qual é a causa real. Conclusões mais consistentes podem ser obtidas usando maior número de árvores heterozigotas ou maiores tamanhos de progênies (50 indivíduos por progênies).

TABELA 2 – Árvores de *G. americana* mostrando desvios significativos no teste G para a razão de segregação meiótica 1:1, nos locos isoenzimáticos *Pgi-2*, *Mdh-2* e *6pgdh-1*.

Genótipo materno		N_{ij}	$N_{ii} + N_{jj}$	G $GL = 1$	Genótipo materno		N_{ij}	$N_{ii} + N_{jj}$	G $GL = 1$
Num.	Tipo				Num.	Tipo			
<i>Pgi-2</i>					<i>6pgdh-1</i>				
3	A_1A_2	3	16	8,89*	3	A_1A_2	5	14	4,26*
<i>Mdh-2</i>					9	A_1A_2	2	17	11,84**
3	A_1A_2	2	18	12,80**	10	A_1A_2	3	14	7,12**
14	A_1A_2	5	15	5,00*	14	A_1A_2	1	12	9,31**
26	A_1A_2	2	17	11,84**	19	A_1A_2	2	9	4,45*
					26	A_1A_2	4	14	5,56*

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

TABELA 3 – Teste G para hipótese de segregação regular de marcadores isoenzimáticos em *G. americana*.

Loco	Genótipo materno	Número de árvores (n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$\sum G_{Hipótese:1:1}$ GL = n	$\sum G_{Heterogeneidade}$ GL = n- 1	$G_{1:1:Agrupado}$ GL = 1	Árvores com desvio de segregação	
<i>Pgi-2</i>	A_1A_2	a	13	109:149	24,10*	17,88	6,23*	1
		b	12	106:133	14,34	11,28	3,05	
<i>Mdh-1</i>	A_1A_2	a	1	8:12	–	–	0,81	
<i>Mdh-2</i>	A_1A_2	a	4	9:50	33,51**	2,11	31,39**	3
<i>6pdh-1</i>	A_1A_2	a	9	31:110	54,04**	4,46	51,40**	6
		b	3	14:30	6,66	0,70	5,95*	

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados dos genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

a) Inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b) Exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

3.3 Desequilíbrio de Ligação

Não foram detectados indícios de desequilíbrio de ligação para nenhum dos pares de locos avaliados em *G. americana* (TABELA 4). As estimativas da medida composta de desequilíbrio de ligação ($\hat{\Delta}_{ij}$) foi próxima a zero e os valores do teste de qui-quadrado não foram significativos para nenhuma das seis possíveis combinações entre pares de locos. Portanto, esses locos devem estar em equilíbrio de ligação

e os alelos de diferentes locos segregam de forma independente. Em espécies de polinização cruzada, o desequilíbrio de ligação é menos provável de ocorrer do que em espécies de autofecundação devido à fecundação cruzada exercer um papel análogo ao da recombinação, resultando em ligações menos efetivas (Hastings, 1990). Os resultados obtidos pelo teste de equilíbrio gamético indicam que os locos revelados podem ser usados em estudos do sistema de reprodução, análise de paternidade, diversidade e estrutura genética de *G. americana*, sem restrições.

TABELA 4 – Valores da medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$), resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) e probabilidade associada (P) para pares de locos isoenzimáticos em *G. americana*.

Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	P
<i>6pgdh-1:Pgi-2</i>	0,004	0,04	0,838
<i>6pgdh-1:Mdh-1</i>	-0,007	1,75	0,185
<i>6pgdh-1:Mdh-2</i>	0,001	0,33	0,565
<i>Pgi-2:Mdh-1</i>	0,003	0,31	0,576
<i>Pgi-2:Mdh-2</i>	-0,004	0,38	0,539
<i>Mdh-1:Mdh-2</i>	0,000	0,01	0,933

4 CONCLUSÕES

Os locos *Mdh-2* e *6pgdh-1* não segregaram perfeitamente de acordo com a razão esperada 1:1 em *G. americana*.

Os locos *Pgi-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2* e *6pgdh-1* não estão ligados entre si e podem ser usados conjuntamente em análises genéticas que requeiram locos em equilíbrio de ligação, como estudos do sistema de reprodução e análise de paternidade.

5 AGRADECIMENTO

O autor agradece à Assistente de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes pela revisão gramatical do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W. T.; JOLY, R. J. Genetics of allozymes variants in Loblolly Pine. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 71, p. 33-40, 1980.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicação em plantas e microorganismo. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira. Colombo: EMBRAPA/CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p.

CHELIAK, W. M.; PITEL, J. A. Inheritance and linkage of allozymes in *Larix laricina*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 34, p. 142-148, 1985.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.

HASTINGS, A. The interaction between selection and linkage in plant populations. In: BROWN, A. H. D. *et al.* (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetics resources**. Berlin: Springer-Verlag, 1990. p. 33-41.

HUANG, Q. Q. *et al.* Genetic control of isozyme variation in Masson Pine, *Pinus massoniana* Lamb. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 43, p. 285-292, 1994.

HUSSENDÖRFER, E.; KONNERT, M.; BERGMANN, F. Inheritance and linkage of isozymes variants of Silver Fir (*Abies alba* Mill.). **Forest Genetics**, Zvolen, v. 2, p. 29-40, 1995.

KING, J. N.; DANCİK, B. P. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 25, p. 430-436, 1983.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 25-37, 2001.

LEWANDOWSKI, A.; BURCZYK, J.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance and linkage of some allozymes in *Taxus baccata* L. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 41, p. 342-347, 1992.

LEWANDOWSKI, A. Inheritance and linkage of some allozymes in *Pinus armandii* Franch. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 79-82, 2000.

MORGANTE, M.; VENDRAMIN, G. G.; GIANNINI, R. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Pinus leucodermis* Ant. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 42, p. 231-236, 1993.

MÜLLER-STARCK, G.; LIU, Y.Q. Genetics of *Cunninghamia lanceolata* Hook. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 236-243, 1988.

MUONA, O.; YAZDANI, R.; LINDQVIST, G. Analysis of linkage in *Picea abies*. **Hereditas**, Lund, v. 106, p. 31-36, 1987.

PAPAGEORGIOUS, A. C. *et al.* Genetic analysis of isoenzyme variation in Mediterranean Cypress (*Cupressus sempervirens* L.). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 42, p. 109-111, 1993.

PASTORINO, M. J.; GALLO, L. A. Inheritance of isozyme variants in *Astrocedrus chilensis* (D. Do) Florin et Boutelje. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 15-20, 1998.

PERRY, D. J.; KNOWLES, P. Inheritance and linkage relationships of allozymes of eastern white cedar (*Thuja occidentalis*) in northwestern Ontario. **Genome**, Ottawa, v. 32, p. 245-250, 1989.

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

SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 191-196, 2002.

THORSÉN, J. *et al.* Inheritance and linkage of isozyme loci in the Basket Willow (*Salix viminalis* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 144-150, 1997.

WANG, C. T.; LIN, T. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme, and estimation of outcrossing rate in a seed orchard of *Cunninghamia konishii* Hay. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, p. 33-37, 1998.

WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Lawrence, v. 35, p. 235-354, 1979.

_____.; COCKERHAM, C. C. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity**, Lund, v. 43, p. 105-111, 1979.

YEH, F. C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis. Edmonton: University of Alberta, 1999. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2004.

ZHELEV, P.; GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Inheritance and linkage of allozymes in a Balkan endemic, *Pinus peuce* Griseb. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 93, p. 60-62, 2002.

HERANÇA E DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO EM LOCOS DE ISOENZIMAS DE *Trema micrantha**

Luciano Arruda RIBAS**
Alexandre Magno SEBBENN***

RESUMO

Nove sistemas enzimáticos (ACP, DIA, EST, GDH, GOT, G6PDH, IDH, MDH e SKDH) codificando doze locos polimórficos (*Acp-1*, *Acp-2*, *Acp-3*, *Dia-1*, *Est-1*, *Gdh-2*, *Got-1*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-3* e *Skdh-1*) foram investigados em *Trema micrantha*. A herança mendeliana de progênies de árvores heterozigotas foi confirmada para todos os locos, pelo teste de ajuste dos padrões de segregação observados em relação à razão de segregação esperada 1:1. O desequilíbrio de ligação foi examinado para 55 pares de locos. Foram detectados desequilíbrios de ligação significativos em cinco pares de locos: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-2:Got-1* e *Gdh-2:Got-1*.

Palavras-chave: segregação; trema; espécies arbóreas tropicais.

ABSTRACT

Nine enzymes systems (ACP, DIA, EST, GDH, GOT, G6PDH, IDH, MDH and SKDH) coding for twelve polymorphic loci (*Acp-1*, *Acp-2*, *Acp-3*, *Dia-1*, *Est-1*, *Gdh-2*, *Got-1*, *G6pdh-1*, *Idh-1*, *Mdh-1*, *Mdh-3* and *Skdh-1*) were investigated in *Trema micrantha*. Mendelian inheritance was confirmed for all loci by testing the fit of band-pattern segregation in progeny from heterozygous trees to expected 1:1 ratio. Linkage disequilibrium was examined for 55 pair of allozymes loci. Five pairs of loci appear to be in linkage disequilibrium: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-2:Got-1* and *Gdh-2:Got-1*.

Key words: segregation; trema; tropical tree species.

1 INTRODUÇÃO

Trema micrantha (L.) B. é uma espécie arbórea folhosa de ocorrência ampla no continente americano, desde 30°N (Estados Unidos) a 30°S (Brasil). Essa espécie ocupa vários ambientes, exceto os mais úmidos. É a primeira espécie a se estabelecer em áreas abandonadas, continuando a existir em todos os estágios de sucessão secundária, exceto na floresta madura (Lorenzi, 1992). Suas flores são hermafroditas crípticas por existirem indivíduos variando de monóicos a dióicos (Torres, 1996). A polinização ocorre principalmente pelo vento, embora suas flores possam ser visitadas por pequenos insetos (Bawa *et al.*, 1985). A dispersão das sementes ocorre por zoocoria, principalmente por aves (Carvalho, 1994). *T. micrantha* tem diversos usos possíveis como na fabricação de papel e celulose, artesanato, produção de resina, uso medicinal, etc. A espécie tem sido muito utilizada para recuperação ambiental (Carvalho, 1994).

A utilização adequada de uma espécie em programas de melhoramento, conservação genética ou qualquer outro uso que implique na manipulação de populações, requer o prévio conhecimento de seu sistema de reprodução, variabilidade e estrutura genética. Tais conhecimentos podem ser obtidos através do uso de marcadores genéticos bioquímicos como isoenzimas. Contudo, para que as isoenzimas possam ser usadas como marcadores genéticos é necessário conhecer a sua herança (Furnier *et al.*, 1986; Gillet & Hattemer, 1989; Thorsén *et al.*, 1997; Lewandowski, 2000), bem como o equilíbrio de ligação entre locos.

O objetivo deste trabalho foi investigar a herança e o desequilíbrio de ligação em doze locos isoenzimáticos detectados em populações de *T. micrantha*. Foram usadas estruturas de progênies de polinização aberta de árvores heterozigotas para o estudo da herança e desequilíbrio de ligação.

(*) Aceito para a publicação em junho de 2004.

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

(***) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: amsebbenn@bol.com.br

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Sementes de polinização aberta foram coletadas em 24 árvores de duas populações naturais de *T. micrantha*, localizadas em dois fragmentos do Estado de São Paulo: Estação Ecológica de Caetetus (Latitude 22°22'S, Longitude 49°40'W, altitude variando de 500 m a 600 m) e Reserva Florestal de Santa Genebra (Latitude 22°49'S, Longitude 47°06'W, altitude variando de 580 m a 610 m). As sementes foram germinadas em viveiro e de cada árvore foram analisadas, via eletroforese de isoenzimas, tecidos foliares de dez plântulas. O genótipo das árvores maternas foi determinado da composição genotípica de suas progênes, usando o método de máxima verossimilhança de Brown & Allard (1970), implementado no programa MLTR de Ritland (1998).

2.2 Eletroforese em Gel de Amido

As enzimas foram extraídas de tecidos foliares de plântulas empregando-se, aproximadamente, 20 mg de tecido de limbo foliar, 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP 40), 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-60) e 200 microlitros da solução de extração número 1 de Alfenas (1998, p. 96). A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel a 13% de concentração, com 2/3 de amido de milho (penetrose 30) e 1/3 de amido de batata (Sigma). As “corridas” foram realizadas em geladeira, com temperatura de 5°C. O tampão de cuba e gel utilizado foi o número 25 (DL-histidina, pH 8,0) citado em Alfenas (1998, p. 123). A lista das isoenzimas investigadas encontra-se na TABELA 1.

TABELA 1 – Sistemas enzimáticos estudados em *T. micrantha*.

Sistemas enzimáticos (Abreviações) Número E.C.	Locos detectados	Número de alelos detectados
Fosfatase ácida (ACP) E.C. 3.1.3.2	A	2
	B	2
	C	3
Diaforase (DIA) E.C. 1.8.1.4	A	2
α -Esterase (α -EST) E.C. 3.1.1.1	A	2
Glucose desidrogenase (GDH) E.C. 1.1.1.47	A	?
	B	2
Glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) E.C. 2.6.1.1	A	3
Glucose 6 fosfato desidrogenase (G6PDH) E.C. 1.1.1.49	A	2
Isocitrato desidrogenase (IDH) E.C. 1.1.1.42	A	1
Malato desidrogenase (MDH) E.C. 1.1.1.37	A	2
	B	2
	C	3
Xiquimato desidrogenase (SKDH) E.C. 1.1.1.25	A	?
	B	3

2.3 Análise de Segregação

Não foram realizados cruzamentos controlados para o estudo da herança isoenzimática em *T. micrantha*. Por isso, adotou-se o método descrito por Gillet & Hattermer (1989) que compara o genótipo da árvore materna com a segregação de suas progênes de polinização aberta. As seguintes condições devem ser satisfeitas: a) toda progênie de uma árvore materna A_iA_i deve possuir o alelo A_i da árvore mãe, e

b) em casos de uma árvore mãe heterozigota (A_iA_j , $i \neq j$): i) cada indivíduo de uma progênie deve possuir um dos alelos da árvore materna, A_i , A_j ; ii) o número de progênes heterozigotas A_iA_j (N_{ij}) deve ser igual à soma das progênes homozigotas A_iA_i (N_{ii}) e A_jA_j (N_{jj}), $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$, e iii) o número de progênes heterozigotas A_iA_k (N_{ik}) deve ser igual ao número de progênes heterozigotas A_jA_k (N_{jk}), $N_{ik} = N_{jk}$, com $k \neq i, j$.

Os fenótipos observados em cada progênie de árvores heterozigotas foram comparados com o esperado pela hipótese de segregação 1:1. A hipótese de segregação individual de cada progênie foi aceita ou descartada com base em um teste de qui-quadrado (χ^2) padrão, com correção de Yates, com um grau de liberdade. Em seguida, todos os testes de qui-quadrado individuais foram somados, e um teste de qui-quadrado total para a segregação 1:1 foi obtido ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$). Simultaneamente, os fenótipos observados de progênies de árvores heterozigotas de mesmo genótipo materno foram somados e um teste de qui-quadrado agrupado foi obtido ($\chi^2_{1:1Agrupado}$). A hipótese nula desse teste é a de igual proporção dos tipos de gametas na progênie produzida por diferentes árvores maternas de mesmo genótipo heterozigoto. A seguir, testou-se a hipótese de heterogeneidade de segregação entre progênies, usando-se um teste de qui-quadrado de heterogeneidade ($\sum \chi^2_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do teste de qui-quadrado agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), do teste qui-quadrado total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$). Esses testes de qui-quadrado são aditivos de forma que $\sum \chi^2_{Hipótese1:1} = \sum \chi^2_{Heterogeneidade} + \chi^2_{1:1Agrupado}$, com n , $n-1$ e 1 grau de liberdade, respectivamente (Mather, 1963). Os locos foram designados com letras e números e os alelos com letras (a a c), em ordem decrescente de migração do anodo para o catodo.

2.4 Análise de Desequilíbrio de Ligação

O teste de desequilíbrio de ligação foi realizado com base na medida composta de desequilíbrio de ligação de Burrows (Δ_{ij}) (Weir, 1979). Essa medida é apropriada para situações onde existem indícios de que a união de gametas não ocorreu de forma aleatória e a identificação dos genótipos é incompleta (Weir & Cockerham, 1979). A hipótese nula de desequilíbrio de ligação ($\Delta_{ij} = 0$) foi testada com o teste de qui-quadrado (χ^2) descrito em Weir (1979). Essas estimativas foram obtidas com auxílio do programa POPGENE versão 1.32 (Yeh *et al.*, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Padrões das Isoenzimas

Todos os treze locos revelados nos nove sistemas isoenzimáticos eram polimórficos, segregando de dois a três alelos cada. Contudo, não foram detectadas árvores maternas heterozigotas na amostra para o loco *Mdh-2*, de forma que não foi possível o estudo de seu padrão de segregação. As descrições dos padrões de herança, segregação e desequilíbrio de ligação dos locos são apresentadas a seguir.

Fosfatase ácida (ACP)

O sistema ACP apresentou três zonas de atividades enzimáticas. As duas zonas de migração mais rápidas, denominadas locos *Acp-1* e *Acp-2*, segregaram dois alelos cada e a zona mais lenta, denominada *Acp-3*, segregou três alelos (FIGURA 1). A avaliação do fenótipo de árvores heterozigotas revelou que estes locos são controlados por enzimas de expressão monomérica. Três zonas de atividade enzimática nessa enzima foram também detectadas em outras espécies arbóreas folhosa, como *Cedrus atlantica* Manetti (Fallour *et al.*, 2001) e *Cecropia pachystachya* Trec. (Ribas *et al.*, 2004).

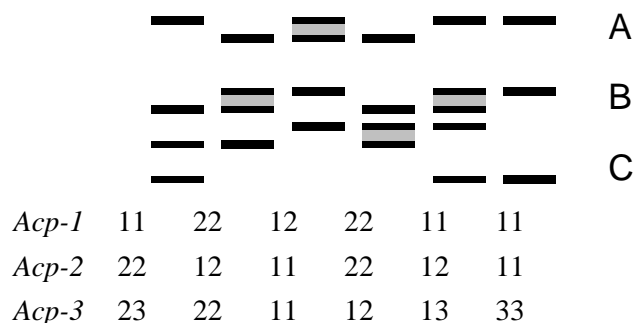
Diaforase (DIA)

O sistema DIA apresentou, claramente, duas zonas de atividade enzimática (FIGURA 1), denominadas locos *Dia-1* e *Dia-2*. Contudo, a zona de migração mais rápida tinha revelação inconstante e, por isso, foi descartada da análise genética. A zona mais lenta foi interpretada como um loco polimórfico segregando três alelos. A observação dos fenótipos de árvores heterozigotas indicou que essa enzima é de expressão monomérica. Em duas outras espécies arbóreas folhosas, *Liriodendron tulipifera* L. (Parks *et al.*, 1990) e *Eschweilera ovata* (Cambess) Miers (Gusson *et al.*, 2004), foram observadas três zonas de atividade nessa enzima.

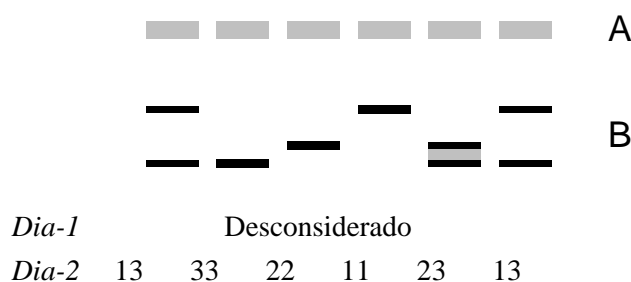
Alfa-Esterase (EST)

O sistema EST apresentou uma zona plausível de interpretação (*Est-1*), interpretada como um loco polimórfico, de expressão monomérica, segregando dois alelos (FIGURA 1). Em *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Larix decidua* Mill (Lewandowski & Mejnartowicz, 1990) foram detectadas até três zonas de atividade nessa enzima.

Fosfatase Ácida (ACP)



Diaforase (DIA)



Esterase (EST)



Glutamato Desidrogenase (GDH)

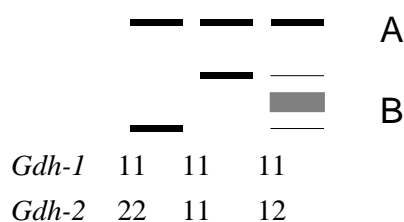


FIGURA 1 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. micrantha* nos sistemas ACP, DIA, EST e GDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

Glucose desidrogenase (GDH)

O sistema GDH apresentou duas zonas de atividades (FIGURA 1). A zona mais rápida de migração não apresentou variação e foi interpretada como um loco (*Gdh-1*) monomórfico. A zona de migração mais lenta (*Gdh-2*) apresentou polimorfismo e foi interpretada como um loco dimérico, segregando dois alelos (*a* e *b*).

Glutamato oxaloacetato transaminase (GOT)

O sistema GOT apresentou uma zona de atividade enzimática segregando três alelos (FIGURA 2). O fenótipo de indivíduos heterozigotos apresentava três bandas nos géis, indicando tratar-se de enzima dimétrica.

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*.

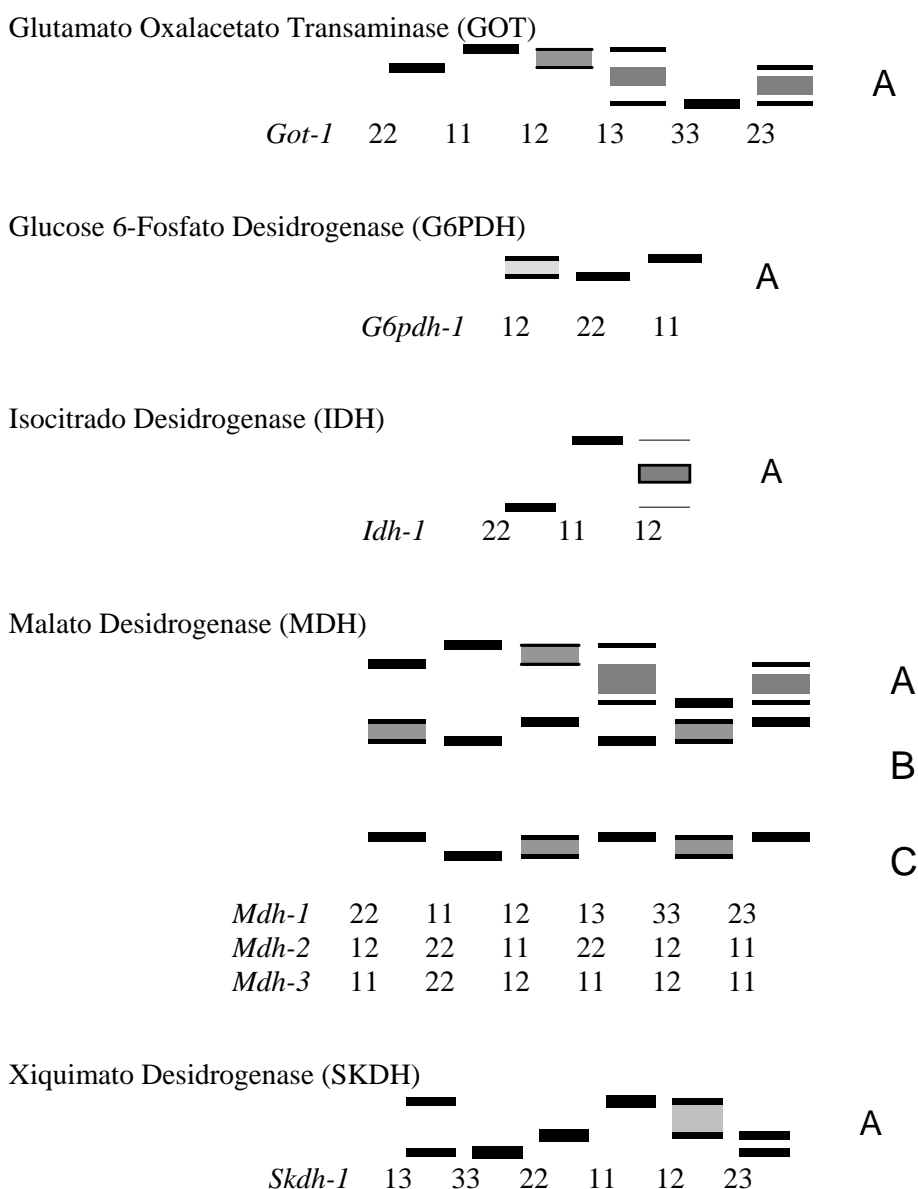


FIGURA 2 – Representação esquemática dos fenótipos observados nos zimogramas de *T. micrantha* nos sistemas GOT, G6PDH, IDH, MDH e SKDH, juntamente com seus respectivos genótipos.

Glucose 6 Fosfato Desidrogenase (G6PDH)

O sistema G6PDH apresentou uma zona de atividade enzimática nas condições de eletroforese utilizadas (FIGURA 2). Essa zona foi interpretada como um loco (*G6pdh-1*) polimórfico, monomérico, segregando dois alelos. Um simples loco controlando essa enzima também tem sido relatado em outros estudos realizados com espécies arbóreas como *Pinus leucodermis* Ant. (Morgante *et al.*, 1993), *Pinus massoniana* Lamb. (Huang *et al.*, 1994) e *E. ovata* (Gusson *et al.*, 2004).

Isocitrato Desidrogenase (IDH)

A enzima IDH apresentou uma zona de atividade interpretada como um loco (*Idh-1*) segregando dois alelos (FIGURA 2). A observação de fenótipos de indivíduos heterozigotos indica que esse loco é dimérico. Uma zona de atividade também foi observada em *Pinus taeda* L. (Adams & Joly, 1980), *P. menziesii* var. *menziesii* (El-Kassaby *et al.*, 1982) e *Cedrus atlantica* Stand (Fallour *et al.*, 2001).

Malato Desidrogenase (MDH)

A enzima MDH apresentou três zonas de atividade. Todas as zonas eram polimórficas e tipicamente de locos diméricos, com indivíduos heterozigotos apresentando padrão com três bandas (FIGURA 2). A zona de migração A (*Mdh-1*) segregou três alelos e as zonas B e C (*Mdh-2* e *Mdh-3*) segregaram dois alelos cada. Três zonas de atividade na enzima MDH foram igualmente observadas em diversas outras espécies arbóreas (King & Dancik, 1983; Ying & Morgenstern, 1990; Huang *et al.*, 1994; Thorsén *et al.*, 1997; Konnert *et al.*, 2001; Sousa *et al.*, 2002; Zhelev *et al.*, 2002).

Xiquimato Desidrogenase (SKDH)

O sistema SKDH apresentou uma zona (*Skdh-1*) de atividade nos géis (FIGURA 2). Essa zona foi interpretada como um loco polimórfico, composto por uma enzima de expressão monomérica, segregando três alelos. Expressão monomérica no sistema SKDH também foi observada em *Araucaria angustifolia* (Mart.) O. Ktze. (Sousa *et al.*, 2002) e dois locos têm sido observados em diversos outros estudos da herança isoenzimática em espécies arbóreas (Geburek & Wang, 1990; Potenko, 2001; Sousa *et al.*, 2002).

3.2 Padrões de Segregação

Não foram detectados fortes indícios de desvios da razão de segregação esperada 1:1 nos locos isoenzimáticos estudados em *T. micrantha* (TABELA 2). Dos doze locos avaliados, seis (*Acp-3*, *Dia-2*, *Gdh-2*, *Idh-1*, *Mdh-3* e *Skdh-2*) não apresentaram qualquer desvio significativo da segregação esperada 1:1. O loco *Acp-1* apresentou desvio significativo no padrão de segregação para os testes de segregação total ($\chi^2_{Hipótese1:1}$) e de heterogeneidade ($\chi^2_{Heterogeneidade}$) em progênies de sete árvores, mas ausência de desvios quando duas árvores, com desvios significativos de segregação 1:1, foram excluídas da análise. Portanto, não se rejeita a hipótese de que esse loco segrega na proporção 1:1. Os locos *Acp-2* e *G6pdh-1* apresentaram desvios significativos de segregação na análise agrupada ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), devido ao excesso de heterozigotos,

mesmo quando árvores mostrando desvios significativos de segregação foram excluídas da análise. As distorções de segregação por excesso de heterozigotos (31:25) podem ter sido causadas por seleção natural a favor de heterozigotos. O loco *Est-1* apresentou desvio significativo da razão de segregação 1:1 para a hipótese total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$) e agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), mas ajuste ao modelo quando as árvores mostrando desvios foram excluídas da análise. O loco *Got-1* apresentou desvios significativos da razão de segregação 1:1 para a hipótese total ($\sum \chi^2_{Hipótese1:1}$) e agrupado ($\chi^2_{1:1Agrupado}$) na análise de três árvores heterozigotas do tipo A_2A_3 , mas ausência de desvio quando duas árvores mostrando desvios de segregação foram excluídas, e para quatro árvores heterozigotas do tipo A_1A_3 , de forma que se aceita a hipótese de segregação 1:1. O loco *Mdh-1* apresentou desvios significativos de segregação na análise agrupada ($\chi^2_{1:1Agrupado}$), mas ausência de desvios quando árvores heterozigotas, mostrando desvios significativos, foram excluídas da análise. Em termos gerais, confirma-se a herança mendeliana simples para todos os doze locos isoenzimáticos avaliados em *T. micrantha*.

3.3 Desequilíbrio de Ligação

Indícios de desequilíbrio de ligação foram observados nas progênies de *T. micrantha* (TABELA 3). Das 55 possíveis combinações de pares de locos, foram detectados valores significativos de desequilíbrio de ligação entre cinco pares, envolvendo oito locos: *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-1:Got-1* e *Gdh-2:Got-1*. Nos demais pares de locos não foram detectados indícios de desequilíbrio de ligação e podem ser usados, sem restrição, no estudo do sistema de reprodução, estrutura e diversidade genética de populações de *T. micrantha*. A combinação dos locos *Dia-1:Mdh-1* apresentou o maior valor do desequilíbrio de ligação, 0,040, embora este valor ainda seja baixo. A exclusão dos locos *Acp-1* e *Got-1* quebram a associação entre quatro pares de locos e a exclusão do loco *Dia-1* ou *Mdh-1* quebra o desequilíbrio entre o último par de locos em associação, de forma que os demais podem ser usados em estudos que requeiram o equilíbrio de ligação.

TABELA 2 – Testes de qui-quadrado (χ^2) para hipótese de segregação regular (1:1) de marcadores isoenzimáticos em *T. micrantha*.

Loco	Genótipo materno	Caso	Número de árvores (n)	$N_{ij} : N_{ii} + N_{jj}$	$N_{ik} : N_{jk}$	$\sum \chi^2$ Hipótese 1:1 GL = n	$\sum \chi^2$ Heterogeneidade GL = n-1	χ^2 1:1 Agrupado GL = 1	Árvores com desvios de segregação
<i>Acp-1</i>	A_1A_2	a)	7	31:25	–	14,91*	14,27*	0,64	2
		b)	5	30:21	–	10,64	9,05	1,59	
<i>Acp-2</i>	A_1A_2	a)	15	77:46	–	18,85	11,03	7,81**	2
		b)	13	68:38	–	11,60	2,62	8,98**	
<i>Acp-3</i>	A_1A_2	a)	3	11:14	–	5,78	5,42	0,36	
		a)	14	71:54	6:3	12,80 ¹	9,49 ²	3,31 ³	
<i>Dia-2</i>	A_1A_2	a)	6	31:29	–	5,43	5,36	0,07	
<i>Est-1</i>	A_1A_2	a)	11	41:67	–	20,31*	14,05	6,26*	2
<i>Gdh-2</i>	A_1A_2	b)	9	39:60	–	7,31	4,78	2,53	
		a)	2	8:11	–	1,88	1,40	0,47	
<i>Got-1</i>	A_1A_3	a)	4	6:11	6:6	12,07 ¹	10,60 ²	1,47 ³	
		a)	3	11:9	7:0	14,96* ¹	7,69 ²	7,34* ³	2
<i>G6pdh-1</i>	A_1A_2	b)	1	4:6	0:0	–	–	0,90	
		a)	12	73:41	–	16,97	7,98	8,89**	1
<i>Idh-1</i>	A_1A_2	b)	11	63:41	–	8,87	4,21	4,65*	
		a)	8	39:41	–	8,63	8,58	0,05	
<i>Mdh-1</i>	A_1A_2	a)	5	33:17	–	6,97	1,83	5,12*	1
		b)	3	27:16	–	3,65	0,84	2,81	
<i>Mdh-3</i>	A_1A_2	a)	3	16:14	–	3,93	3,36	0,57	
		a)	10	40:49	–	8,72	7,81	0,91	

N_{ij} e $N_{ii} + N_{jj}$ são os números observados de genótipos heterozigotos e homozigotos, respectivamente.

N_{ik} e N_{jk} são os números observados de genótipos heterozigotos do tipo ik e jk , respectivamente.

a) Inclui todas as árvores heterozigotas em um dado loco.

b) Exclui as árvores com distorção de segregação em um dado loco.

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

(1) $GL = 2n$.

(2) $GL = 2(n-1)$.

(3) $GL = 2$.

TABELA 3 – Valores da medida composta de desequilíbrio gamético de Burrows ($\hat{\Delta}_{ij}$), resultados do teste de qui-quadrado (χ^2) e probabilidade associada (P) para pares de locos isoenzimáticos que apresentaram desvios significativos da hipótese de desequilíbrio de ligação em populações de *T. micrantha*.

Locos	$\hat{\Delta}_{ij}$	χ^2	P
<i>Acp-1:Acp-3</i>	-0,023	7,17**	0,007
<i>Acp-1:Idh-1</i>	0,025	5,62*	0,018
<i>Dia-1:Mdh-1</i>	0,040	5,18*	0,023
<i>Dia-2:Got-1</i>	-0,025	5,68*	0,017
<i>Gdh-2:Got-1</i>	0,010	7,60**	0,006

(*) $P < 0,050$.

(**) $P < 0,010$.

4 CONCLUSÕES

A herança mendeliana simples foi confirmada para todos os doze locos avaliados em *T. micrantha*.

Os pares de locos *Acp-1:Acp-3*, *Acp-1:Idh-1*, *Dia-1:Mdh-1*, *Dia-1:Got-1* e *Gdh-1:Got-1*, aparentemente, não segregam de forma independente e um loco de cada par deve ser excluído para análises genéticas que requeiram locos em equilíbrio de ligação.

5 AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Assistente de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes pela revisão gramatical do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W. T.; JOLY, R. J. Genetics of allozymes variants in Loblolly Pine. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 71, p. 33-40, 1980.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicação em plantas e microorganismo. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574 p.

BAWA, K. S.; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 72, p. 33-345, 1985.

BROWN, A. H. D.; ALLARD, R. W. Estimation of mating system in open-pollinated maize populations using isozymes polymorphisms. **Genetics**, Washington, D.C., v. 66, p. 133-145, 1970.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira. Colombo: EMBRAPA/CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p.

EL-KASSABY, Y. A.; YEH, F. C.; SZIKLAI, O. Inheritance of allozyme variants in Coastal Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 24, p. 325-335, 1982.

FALLOUR, D.; FADY, B.; LEFÈVRE, F. Evidence of variation in segregation patterns within a *Cedrus* population. **The J. of Heredity**, Cary, v. 92, p. 260-266, 2001.

FURNIER, G. R. *et al.* Inheritance and linkage of allozymes in seed tissues of whithbark pine. **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 28, p. 601-604, 1986.

GEBUREK, T.; WANG, Q. Inheritance of isozyme variants and their linkage relationships in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* Hook.). **Euphytica**, Dordrecht, v. 49, p. 193-201, 1990.

GILLET, E.; HATTEMER, H. H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e equilíbrio gamético em locos isoenzimáticos de *Eschweilera ovata*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, 2004. (Submetido).

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M. Herança e desequilíbrio de ligação em locos de isoenzimas de *Trema micrantha*.

HUANG, Q. Q. *et al.* Genetic control of isozyme variation in Masson Pine, *Pinus massoniana* Lamb. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 43, p. 285-292, 1994.

KING, J. N.; DANK, B. P. Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). **Can. J. Genet. Cytol.**, Ottawa, v. 25, p. 430-336, 1983.

KONNERT, M.; RUETZ, W.; FROMM, M. Genetic variation in *Acer pseudoplatanus* L. I. Inheritance of isozymes variants. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 25-37, 2001.

LEWANDOWSKI, A. Inheritance and linkage of some allozymes in *Pinus armandii* Franch. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 79-82, 2000.

_____.; MEJNARTOWICZ, L. Inheritance of allozymes in *Larix decidua* Mill. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 39, p. 184-188, 1990.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 302 p.

MATHER, K. **The measurement of linkage in heredity**. New York: John Wiley & Sons, 1963. 149 p.

MORGANTE, M.; VENDRAMIN, G. G.; GIANNINI, R. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Pinus leucodermis* Ant. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 42, p. 231-236, 1993.

PARKS, C. R. *et al.* Genetic control of isozyme variation in the genus *Liriodendron* L. (Magnoliaceae). **Journal of Heredity**, Cary, 81, p. 317-323, 1990.

POTENKO, V. Inheritance of allozymes and genetic variation in natural populations of Japanese Yew in Petrov Island, Russia. **Forest Genetics**, Zvolen, v. 8, p. 307-313, 2001.

RIBAS, L. A.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Herança e desequilíbrio gamético em sete locos isoenzimáticos de *Cecropia pachystachya*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, 2004. (Submetido).

RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR**. Version 1.1. British Columbia: University of British Columbia. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 18 abr. 1998.

SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H.; ROBINSON, I. P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 191-196, 2002.

THORSÉN, J. *et al.* Inheritance and linkage of isozyme loci in the Basket Willow (*Salix viminalis* L.). **The Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 144-150, 1997.

TORRES, R. B. **Biologia da reprodução de *Trema micrantha* (L.) Blume (Ulmaceae)**. 1996. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

WEIR, B. S. Inferences about linkage disequilibrium. **Biometrics**, Lawrence, v. 35, p. 235-354, 1979.

_____.; COCKERHAM, C. C. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. **Heredity**, Lund, v. 43, p. 105-111, 1979.

YEH, F. C.; YANG, R.; BOYLE, T. **POPGENE version 1.32**: Microsoft Window-based freeware for population genetics analysis. Edmonton: University of Alberta, 1999. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/download.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2004.

YING, L.; MORGENSTERN, E. K. Inheritance and linkage relationships of some isozymes of *Larix laricina* in New Brunswick, Canada. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 39, p. 245-251, 1990.

ZHELEV, P.; GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Inheritance and linkage of allozymes in a Balkan endemic, *Pinus peuce* Griseb. **The Journal of Heredity**, Cary, v. 93, p. 60-62, 2002.