

NOVO ENFOQUE DO MELHORAMENTO GENÉTICO DA SERINGUEIRA PARA A REGIÃO AMAZÔNICA¹

JOÃO RODRIGUES DE PAIVA² e PAULO YOSHIO KAGEYAMA³

RESUMO - A partir de dados obtidos pela análise de eletroforese em duas populações naturais de seringueira (*Hevea* spp), discute-se a importância dos parâmetros de variabilidade genética destas populações, das estimativas da taxa de cruzamento e do coeficiente de endogamia para o melhoramento genético da seringueira. A quantidade de variabilidade e o padrão de distribuição das plantas dentro das populações permitem a proposição de novas estratégias de melhoramento. O cultivo da seringueira na região amazônica poderá ser bem sucedido, desde que represente o modelo existente nas populações naturais, referente à quantidade e à forma de distribuição da variabilidade.

Termos para indexação: *Hevea* spp, eletroforese, variabilidade genética, taxa de cruzamento, coeficiente de endogamia.

NEW APPROACH FOR RUBBER TREE BREEDING FOR THE AMAZON REGION

ABSTRACT - Based on the data of electrophoretic analysis from two rubber tree (*Hevea* spp) natural population, the importance of the parameters such as genetic variability of populations, outcrossing rate and inbreeding coefficient for their implications crop improvement is discussed. The large amount of genetic variation within populations, and the pattern of plant distribution into the populations permit the proposition of new improvement strategies. The rubber tree plantation in the Amazon region would be well successful only if it represents the existing natural populations model, with reference to the quantity and the form of variability distribution in the populations.

Index terms: *Hevea* spp, electrophoresis, genetic variability, outcrossing rate, inbreeding coefficient.

INTRODUÇÃO

O gênero *Hevea* é característico da floresta tropical úmida e se distribui de 6°N a 15°S de latitude e de 46°L a 77°O de longitude, cobrindo uma ampla variação de regiões ecológicas e bioclimáticas. A ocorrência natural do gênero está circunscrita aos limites da região amazônica brasileira, onde são encontradas dez espécies, e países limítrofes, tais como Bolívia,

Peru, Equador, Colômbia, Guiana, Suriname e Venezuela (Compagnon, 1986), totalizando onze espécies.

O melhoramento genético da seringueira tem constantemente procurado e utilizado novas fontes de variabilidade genética, visando a atingir o objetivo básico de reunir em um só indivíduo as características de alta produção de borracha e resistência a doenças, como o "mal-das-folhas", causado pelo fungo *Microcyclus ulei* (P. Henn.) V. Arx.

O aproveitamento racional da variabilidade genética das populações naturais de seringueira tem sido modesto, considerado o seu potencial e direcionado para a obtenção de clones produtivos e resistentes a doenças.

Porém, à medida que novos conhecimentos são adquiridos sobre a forma de organização, manutenção e distribuição da variabilidade genética das espécies tropicais, se fortalece a hipótese de que o cultivo

¹ Aceito para publicação em 27 de maio de 1993.

Extraído da Tese do primeiro autor apresentada à ESALQ/USP para obtenção do Grau de Doutor.

² EMBRAPA/CPAA, Caixa Postal 319, CEP 69048-660 - Manaus, AM.

³ Eng. Agr. Dr. Prof. Adjunto da ESALQ/DCF/USP, Caixa Postal 9, CEP 13418-900. Piracicaba, SP.

racional de uma espécie em ambiente tropical tem que, obrigatoriamente, conviver em equilíbrio com os fatores bióticos do ecossistema. Caso contrário, está fadado ao insucesso.

Além disso, o conhecimento das populações naturais obviamente proporcionará maior exploração do potencial de variabilidade genética existente, tanto para uso direto pelo melhoramento genético, como para orientar coleta, amostragem, conservação e preservação de germoplasma, como dos de seringueiras nativas.

O objetivo do presente trabalho é discutir os dados obtidos pela análise de eletroforese, em duas populações naturais de seringueira, e utilizar o modelo de distribuição da variabilidade existente nessas populações como base para propor estratégias de melhoramento genético da seringueira, visando principalmente ao pequeno produtor.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado consiste de plantas oriundas de sementes de seringueira, coletadas em duas populações naturais localizadas no Estado do Acre, na latitude de 9°58'S e longitude de 67°48'O; nos seringais nativos existentes na Reserva Florestal do Catuaba, situado no Km 22 da rodovia BR 364, pertencente à Universidade Federal do Acre (UFAC); e na área da EMBRAPA/CPAF-AC, no km 14 da rodovia BR 364.

As análises eletroforéticas foram feitas em gel de amido, com migração horizontal, utilizando-se extrato fresco de folhas jovens de seringueira no estágio foliar "B" (folíolos pendentes, coloração antocianica, com cerca de 1,0cm a 2,0 cm), conforme recomendação de Lebrun & Chevallier (1988). Foram estudados os sistemas enzimáticos malato desidrogenase (MDH) - EC 1.1.1.37, shiquimato desidrogenase (SKDH) - EC 1.1.1.25 e leucina aminopeptidase (LAP) - EC 3.4.11.1 (Tabela 1).

TABELA 1. Sistemas enzimáticos, abreviações, tampões, aloenzimas e mobilidade relativa (RM).

Enzima	Abreviações	Tampões*			Aloenzima	RM
		Eletrodo	Gel	Coloração		
• Malato desidrogenase EC 1.1.1.37	MDH-1	A	B	C	1	100
					2	90
					3	80
• Shiquimato desidrogenase EC 1.1.1.25	SKDH	A	B	C	1	100
					2	115
					3	98
• Leucina aminopeptidase EC 3.4.11.1	LAP-1	A	B	D	4	76
					5	56
					1	100
					2	107
	LAP-2	A	B	D	3	116
					4	93
					5	87
					1	100
			2	113		
			3	91		
			4	76		

* - A: Tris citrato pH 6,6; B: Histidine 0,05M pH 6,0; C: Tris HCl pH 8,5 e D: Tris Maleato pH 5,4 (Lebrun & Chevallier, 1988).

Foram analisadas 14 a 24 plantas (progênies), pertencentes a 26 e 27 famílias, respectivamente para a população 1 e 2.

As estimativas dos parâmetros de variabilidade foram calculadas seguindo as metodologias de Nei (1973) e Wright (1978). A taxa de cruzamento e o coeficiente de endogamia foram estimados no que se refere à espécie, conforme Li (1955) e Weir (1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões eletroforéticos que apresentaram boa atividade e cujos locos foram determinados para cada um dos três sistemas estudados são apresentados nas Fig. 1 a 3.

No sistema leucina aminopeptidase (LAP) foram encontrados dois locos (LAP-1 e LAP-2), respectivamente com cinco e quatro alelos. No sistema shiquimato desidrogenase (SKDH), foi identificado somente um loco com cinco alelos, enquanto que para o malato desidrogenase (MDH) foi analisado somente um loco com três alelos.

A estrutura monomérica das enzimas SKDH e LAP está em concordância com os resultados apresentados por Irca (1986), Chevallier et al. (1984) e Chevallier (1988) e em discordância quanto ao número de alelos por loco. O número de alelos por loco, para ambos os sistemas, foi superior aos analisados anteriormente, apresentando, portanto, maior variabilidade genética nessas populações.

Os parâmetros de variabilidade estimados de-

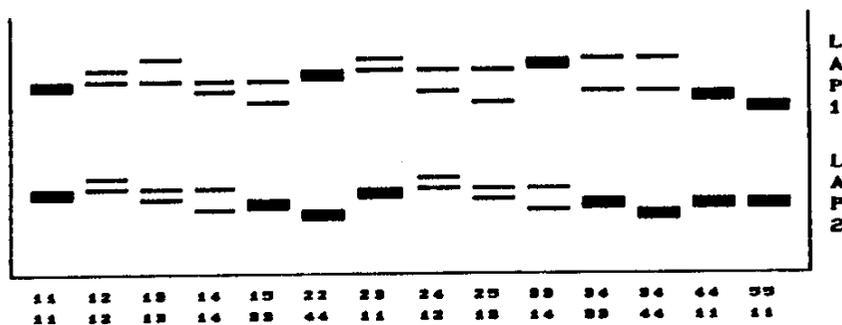


FIG. 1. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de plantas em duas populações naturais de seringueira.

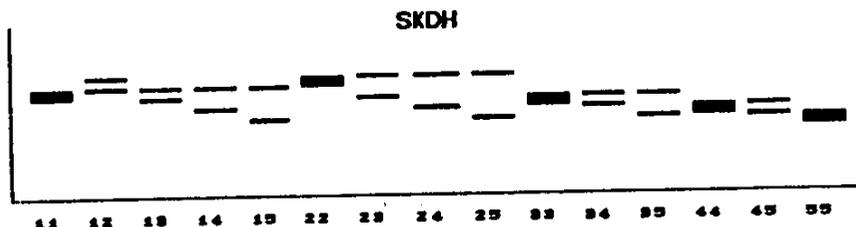


FIG. 2. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de plantas em duas populações naturais de seringueira.

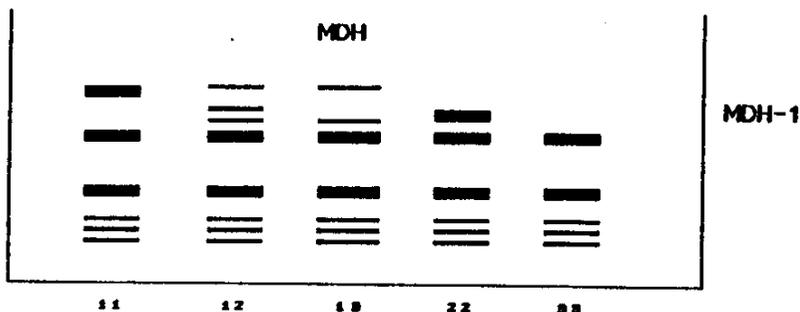


FIG. 3. Perfis das bandas isoenzimáticas encontradas na análise de plantas em duas populações naturais de seringueira.

monstraram altos níveis de variação genética para as duas populações em conjunto ($H_T = 0,3356$) (Tabela 2), e que a maior proporção de variabilidade encontra-se dentro da população (99,85%).

Gonçalves (1981) destacou que existe grande variação nos seringais nativos de Rondônia para as características de porte, circunferência do caule, período de queda de semente, características da casca, tamanho de semente, formato da copa e densidade de árvores por hectare.

Por outro lado, Paiva (1981) observou menor variabilidade entre plantas nos seringais de terra firme em comparação com os seringais de várzea. Levantou também a hipótese de que os seringais em áreas de várzeas devem apresentar maior variabilidade gené-

tica, dado o mecanismo de dispersão de sementes pelo rio, que favorece maior fluxo gênico.

Posteriormente, Chevallier (1988) também destacou que o alto índice de variação da seringueira, em seu local de origem, estaria de acordo com o caráter perene da espécie, o presumível modo de cruzamento como forma de reprodução, e a maneira de dispersão das sementes por animais ou pelo rio, como fatores que atuam para a manutenção dos altos níveis de variação na população.

O trabalho apresenta estimativas de 64,46% da taxa média de cruzamento para a seringueira em populações naturais e de 21,81% (Tabela 3) do coeficiente médio de endogamia, calculados pela metodologia de Weir (1990). Esses mesmos coeficientes, estimados pela metodologia de Li (1955), foram de 64,15% e 21,84%, respectivamente.

Simmonds (1989) relata que os estudos sobre polinização cruzada em plantios de seringueira, aparentemente não têm sido muito bem entendidos, pelo fato da ocorrência de plantas anãs em jardins de sementes de boa procedência, causada possivelmente pela autofecundação. Destaca, também, que a taxa de autofecundação natural varia em torno de 16% a 28%.

Para os melhoristas de seringueira, a taxa de cruzamento natural da espécie sempre foi uma incógnita, apesar de sua grande importância na definição de estratégias de melhoramento genético e no entendimento da estrutura genética das populações.

TABELA 2. Diversidade genética total (H_T), dentro da população (H_S), entre populações (D_{ST}) e proporção da diversidade em relação a total (G_{ST}) para quatro locos em duas populações naturais de seringueira.

Locos	N*	H_T	H_S	G_{ST}	D_{ST}
LAP-1	1020	0,3109	0,3096	0,0042	0,0013
LAP-2	962	0,2211	0,2206	0,0023	0,0005
SKDH	853	0,6253	0,6239	0,0022	0,0014
MDH-1	976	0,0726	0,0712	0,0193	0,0014
MÉDIA		0,3356	0,3351	0,0003	0,0001

* - Número total de plantas analisadas nas duas populações.

TABELA 3. Estimativas do coeficiente de endogamia (\hat{f}) e da taxa de fertilização cruzada (\hat{t}) para 17 alelos em quatro locos de duas populações naturais de seringueira¹.

Locos	Li (1955)*		Weir (1990)	
	\hat{t}	\hat{f}	\hat{t}	\hat{f}
LAP-1	0,1644 (0,0288)	0,7176 (0,0424)	0,1664 -	0,7147 -
LAP-2	0,2179 (0,0412)	0,6422 (0,0577)	0,2099 -	0,6530 -
SKDH	0,2481 (0,0257)	0,6024 (0,0173)	0,2488 -	0,6008 -
MDH-1	0,1956 (0,0755)	0,6728 (0,1058)	0,2535 -	0,6502 -
MÉDIA	0,2184	0,6415	0,2181	0,6446

¹ - Adaptado de Paiva (1992)

* - Valores entre parênteses correspondem aos desvios padrões.

As diferenças ecológicas – peculiares a cada região onde são desenvolvidas as pesquisas com melhoramento genético da seringueira – e o nível de tecnologia utilizado no plantio comercial, são fatores que determinam uma abordagem diferencial dos problemas de pesquisa da espécie.

Dadas as limitações da baixa produção de borraça dos clones e a pressão de patógenos existentes, principalmente na região amazônica e no sul da Bahia, o objetivo maior dos programas de melhoramento desenvolvidos em Manaus (AM), Belém (PA) e na Bahia, ainda consiste em associar em um só clone as características de produção e de resistência à doenças.

A estratégia utilizada consiste, basicamente, no cruzamento de plantas que possuam essas características, seguido da avaliação das progênes e clonagem das plantas superiores. Os novos clones são, posteriormente, avaliados em experimentos específicos até a sua recomendação.

Apesar do esforço das instituições de pesquisa localizadas nessas regiões, não houve grandes mudanças no quadro de recomendação de clones para o plantio comercial (Gomes et al., 1983; Pinheiro & Alves, 1983; Paiva & Gonçalves, 1983).

A propagação vegetativa da seringueira via enxertia, que é a forma normal de estabelecimento de plantios comerciais, de certa forma condiciona os melhoristas a procurarem, tanto nas populações naturais como nas artificiais, combinações gênicas superiores, reunidas em um só indivíduo, para depois fixá-las através da clonagem. Normalmente, este caminho tende à uniformidade, ao contrário do que ocorre nas populações naturais, onde o nível de variabilidade genética contida dentro das populações, tem um significado biológico importante para o equilíbrio com o ecossistema.

A grande quantidade de variabilidade genética encontrada dentro das populações de seringueira, e a forma de distribuição dispersa dos indivíduos nas populações naturais, constituem forte indicativo de que, no cultivo racional da seringueira nas regiões-problema, deve ser evitada a uniformidade genética do material de plantio, haja vista que a experiência atual dos plantios nessas regiões tem conduzido, com raras exceções, ao insucesso do cultivo.

Essa mudança no enfoque do melhoramento genético implicaria profundas modificações nos atuais métodos utilizados nas instituições de pesquisa, em ambientes favoráveis à incidência de doenças.

Neste caso, a população base para o melhorista passaria de um número reduzido de clones para um amplo conjunto de plantas sexuadas, contendo uma porção bem maior de variabilidade genética. Isto possibilitaria, também, a melhor exploração da variabilidade genética natural, em relação à obtenção de clones.

Dentro dessa linha de raciocínio, o melhoramento genético deixaria de explorar só o vigor do híbrido dos cruzamentos. Ou seja, o mais importante não seria a obtenção de clones produtivos e resistentes, mas sim, os descendentes das plantas que apresentassem níveis satisfatórios de produção e tolerância à doenças nas regiões-problema, passando-se a explorar o melhoramento de populações.

Conforme aborda Valois (1983), o enfoque dado anteriormente ao programa de melhoramento genético da seringueira desenvolvido no Brasil levou em consideração a resistência vertical. Como consequência, poucos clones são hoje indicados para o plantio em larga escala, em virtude da quebra deste tipo de resistência das plantas às doenças.

Outro aspecto a ser comentado refere-se ao sucesso da seleção de plantas produtivas em viveiros, com sementes originadas de seringueiras nativas, conduzida em Manaus (AM) (Embrapa, 1976). A recomendação futura desse material para plantio na forma de semente sexuada deveria estar associada a outras medidas de estratégias de plantio apropriadas à região tropical úmida.

Esta estratégia de melhoramento, a médio e longo prazo, teria como objetivo o de obter sementes melhoradas de seringueira, visando ao pequeno produtor, para o plantio na densidade de plantas por hectare, possivelmente menor do que a atualmente recomendada para clones (476 plantas/ha), a ser pesquisada. Isto resultaria em redução da produtividade de borracha, mas com a garantia de produção contínua e sem a necessidade de controle fitossanitário.

Outra forma de representar o nível de variabilidade genética contida dentro das populações naturais é incrementar as pesquisas com policultivos. A mistura de culturas perenes de expressão econômica tende a tornar-se uma realidade nas regiões tropicais, como forma de representar a diversidade de suas florestas naturais. Neste caso, o plantio de clones-elites de seringueira, em associação com outras culturas, pode também constituir alternativa agrícola viável para essas regiões, desde que sejam respeitadas as características básicas de variabilidade das populações naturais.

No ecossistema tropical, além da variabilidade genética contida dentro das populações naturais, a diversidade de espécies e a densidade de plantas por hectare são características importantes na manutenção do equilíbrio biológico das populações (Bawa, 1974; Hamrick, 1983; O'Malley & Bawa, 1987).

A descoberta de alternativas agrícolas economicamente viáveis para a região amazônica, principalmente com culturas perenes, imbuí-se de um cunho social bastante elevado, se o modelo for adequado às características do homem regional. A alternativa deve atender às necessidades básicas do amazônida, além de representar uma solução para a ocupação do relativo vazio demográfico.

Outro aspecto a ser discutido como estratégia de melhoramento da seringueira refere-se à exploração da endogamia encontrada nas populações naturais.

Evidências experimentais têm demonstrado que alguns clones de seringueira com bom desempenho na produção de borracha são originados dos cruzamentos entre clones primários (clone obtido de plantas de polinização livre) (SUDHEVEA, 1971; Ho, 1979; Paiva & Gonçalves, 1989).

O isolamento dos indivíduos de seringueira nas condições nativas, associado à grande produção de sementes e à maior probabilidade de os agentes polinizadores (insetos) visitarem uma flor da mesma planta do que visitarem flores de plantas diferentes, torna possível aceitar a idéia de que parte da produção de sementes nativas seria originada de autofecundação.

O cruzamento entre árvores matrizes onde exista a estruturação de indivíduos aparentados constitui também outra forma de provocar a endogamia.

O nível de endogamia estimado para as duas populações de seringueira, seja devido à autofecundação seja ao cruzamento entre plantas aparentadas, deve apresentar uma vantagem adaptativa. Uma possibilidade seria a de provocar a homozigose dos genes deletérios e, devido à seleção natural, eliminar as plantas não adaptadas ao ambiente.

Portanto, o cruzamento entre clones primários de origens diferentes, que são plantas que passaram pelo crivo da seleção natural e artificial antes da clonagem, podem expressar diferentes níveis de vigor heterótico. A exploração desta linha de pesquisa nos programas de melhoramento genético da seringueira abriria outro campo a ser pesquisado, desde que fossem provocados cruzamentos entre clones aparentados, seguidos de seleção e cruzamentos entre plantas geneticamente distintas.

CONCLUSÕES

1. A quantidade de variabilidade encontrada dentro das populações e o padrão de distribuição das plantas da espécie, permitem a proposição de novas estratégias de melhoramento genético da seringueira.

2. O cultivo da seringueira na região amazônica poderá ser bem sucedido, desde que represente o modelo existente nas populações naturais, referente à quantidade e à forma de distribuição da variabilidade genética.

3. A obtenção de sementes melhoradas de seringueira pode constituir uma alternativa de cultivo para o pequeno produtor na região amazônica.

4. O plantio de clones elites de seringueira em associação com outras culturas constitui uma forma de representar a diversidade existente nas florestas tropicais, ficando mais próximo do equilíbrio biológico desses ecossistemas.

5. O grau de endogamia existente nas populações naturais deve apresentar uma vantagem adaptativa para a espécie, que pode ser aproveitada pelo melhoramento genético na exploração do vigor heterótico do cruzamento entre clones primários de seringueira, como forma de obtenção e seleção de clones elites para plantio em regiões não-tradicionais.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo suporte financeiro, à Universidade Federal do Acre (UFAC) e à EMBRAPA/UE-PAE-Rio Branco pelo apoio logístico na coleta do material, ao CENARGEN pelo apoio parcial na cessão de materiais de laboratório e a colega Margaret Queiroz pela revisão do texto.

REFERÊNCIAS

- BAWA, K.S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution*, Lancaster, v. 28, p. 85-92, 1974.
- CHEVALLIER, M.H. Genetic variability of *Hevea brasiliensis* germplasm using isozyme markers. *Journal of the Rubber Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur*, v. 3, p.42-53, 1988.
- CHEVALLIER, M.H.; LEBRUN, P.; NORMAND, F. Approach to the genetic variability of germplasm using enzymatic markers. In: COLLOQUE EXPLOTATION-PHYSIOLOGIE ET AMELIORATION DE L'HEVEA, 1984, Montpellier. Montpellier: *Compte Rendu. IRCA/GERDAT*, 1984. p. 365-376.
- COMPAGNON, P. *Le caoutchouc naturel: biologie, culture, production*. Paris: G.P. Maisonneuve & Larose, 1986. 535p.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Seringueira. (Manaus, AM). Seleção de plantas em condições de viveiro. *Relatório Anual 1976*, Manaus, 1976. p.48-49.
- GOMES, A.R.S.; VIRGENS FILHO, A. de C.; MARQUES, J.R.B.; SANTOS, P.M. dos. Avaliação de clones de seringueira (*Hevea sp*) no sul da Bahia. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE RECOMENDAÇÕES DE CLONES DE SERINGUEIRA, 1., 1982, Brasília. *Anais... Brasília: EMBRAPA-DDT*, 1983. p.139-158.
- GONÇALVES, P.S. *Expedição Internacional à Amazônia no Território Federal de Rondônia para coleta de material botânico de seringueira (Hevea brasiliensis)*. Manaus: EMBRAPA-CNPDS, 1981. 60p. Relatório de viagem.
- HAMRICK, J.L. The distribution of genetics variation within and among natural populations. In: SHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; THOMAS, W.L. (Eds.) *Genetic and conservation*. Menlo Park: The Benjamin/Cummings, 1983. p.335-348.
- HO, C.Y. Contributions to improve the effectiveness of breeding, selection and planting recommendations of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. Ghent. Belgium: Faculty of Agricultural Sciences, 1979. 341p.
- IRCA. Laboratoire d'électrophorèse. *Rapport Annuel 1985*. Paris: 1986. p. 33-35.
- LEBRUN, P.; CHEVALLIER, M.H. *Starch and polycrylamide gel electrophoresis of Hevea brasiliensis: a laboratory manual*. Montpellier: IRCA/CIRAD, 1988. 44p.
- LI, C.C. *Population genetics*. Chicago: The University of Chicago Press, 1955. 366p.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.70, p.3321-3323, 1973.
- O'MALLEY, D.M.; BAWA, K.S. Mating system of a tropical rain forest tree species. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 74, p.1143-1149, 1987.
- PAIVA, J.R. de. *A coleta de material sexuado e assexuado em seringais nativos do Estado de Mato Grosso*. Manaus: EMBRAPA-CNPDS, 1981. 26p. Relatório.

- PAIVA, J.R. de. **Variabilidade enzimática em populações naturais de seringueira (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Müell. Arg.)**. Piracicaba: ESALQ, 1992. 145p. Tese de Doutorado.
- PAIVA, J.R. de, GONÇALVES, P.S. Considerações preliminares do desempenho de clones de seringueira em Manaus. Estudos em desenvolvimento. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE RECOMENDAÇÕES DE CLONES DE SERINGUEIRA, 1., 1982, Brasília. Anais... Brasília: EMBRAPA-DDT, 1983. p. 173-182.
- PAIVA, J.R. de; GONÇALVES, P.S. **Eficiência do programa de melhoramento da seringueira no Centro Nacional de Pesquisa de Seringueira e Dendê: nove anos de pesquisa**. Manaus: EMBRAPA-CNPDS, 1989. 41p (EMBRAPA-CNPDS. Boletim de Pesquisa, 2.).
- PINHEIRO, F.S.V.; ALVES, R.M. Comportamento de clones de seringueira em algumas localidades do Pará e Maranhão. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE RECOMENDAÇÕES DE CLONES DE SERINGUEIRA, 1., 1982, Brasília. Anais... Brasília: EMBRAPA-DDT, 1983. p. 159-172.
- SIMMONDS, N.W. Rubber breeding. In: WEBSTER, C.C.; BAULDKWILL, W. **Rubber**. Singapore: Langman Scientific & Technical, 1989. 615 p.
- SUDHEVEA. Melhoramento genético da seringueira. In: _____. **Plano Nacional da Borracha**. Anexo 11. Pesquisa e experimentação com a seringueira. Rio de Janeiro: 1971. p.15-36.
- VALOIS, A.C.C. Expressão de caracteres em seringueira e obtenção de clones produtivos e resistentes ao mal-das-folhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n.9, p.1015-1020, 1983.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis: methods for discrete populations genetic data**. [S.l.]: Suderland Sinauer Associates, 1990. 377p.
- WRIGHT, S. Evolution and genetics of populations. In: **VARIABILITY within and among natural population**. Chicago: University of Chicago Press, 1978, v. 4.