

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE *Eucalyptus citriodora* HOOK,
Eucalyptus maculata HOOK E SEUS HÍBRIDOS NATURAIS

Rubens Alves da Cunha (*)
José Teóphilo do Amaral Gurgel (**)
José Furtado Pisani (*)

O. D. C. 165.71:176.1 *Eucalyptus*

SUMMARY

This paper deals with the possibility of discrimination, among the parental species *Eucalyptus citriodora* Hook, *Eucalyptus maculata* Hook and their natural hybrids, using morphological characters only.

It was analysed 45 trees in all classes: the characters studied were the length and width of the leaves, the maximum diameter of the fruit, the maximum diameter of the operculum, and the maximum and minimum axis of the seeds, measured in milimeters and their natural logarithms were submitted to multivariate statistical analysis.

The following conclusions were obtained: by using the length and the width of the leaf, it was possible, at 5% level of significance, to discriminate between the two species and their natural hybrids. The maximum diameter of the fruit and the diameter of the operculum could only discriminate between the parental species and their natural hybrids. Finally, the analysis of the data of the maximum and the minimum axis of the seeds could discriminate between the two species, but could not discriminate the parental species *E. maculata* from the natural hybrids, but also discriminate natural hybrids from *E. citriodora*.

1. INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Eucalyptus*, quando em seu ambiente natural na Austrália, dispõem, via de regra, de vários mecanismos que dificultam a sua hibridação natural (PRYOR, 1976). Entre eles, citam-se as barreiras geográficas, as diferenças de antése entre as espécies simpátricas, menor vigor de alguns híbridos em relação às espécies parentais, o que dificulta sua manutenção.

Algumas das espécies de *Eucalyptus* trazidas ao Brasil, para fins de reflorestamento, não convivem na mesma área geográfica em seu país de origem. Muitas delas têm afinidades sistemáticas entre si, onde a possibilidade de haver cruzamento natural entre as mesmas, caso sejam plantadas próximas uma das outras; a isto alia-se outro fator, qual seja, o alargamento do período de floração, demonstrado pela maioria das espécies aqui introduzidas, contrariamente ao que acontece na sua origem.

(*) Departamento de Matemática e Estatística, Instituto de Geociências e Ciências Exatas - UNESP - Campus de Rio Claro.

(**) Departamento de Biologia, Instituto de Biociências - UNESP - Campus de Rio Claro.

Esta última situação ocorreu aqui no Brasil, onde nos Hortos Florestais das Ferrovias Paulistas S.A. (FEPASA), o *E. citriodora* Hook foi plantado próximo ao *E. maculata* Hook; acontece que, havendo afinidade sistemática entre essas duas espécies e coincidindo o tempo de floração entre elas, apareceram entre sementes colhidas desses talhões, vários híbridos naturais entre as espécies acima mencionadas (LARSEN, 1965).

Os híbridos obtidos no cruzamento natural entre *E. citriodora* e *E. maculata* oferecem certas vantagens em relação à constituição da madeira sobre ambas espécies parentais, pelas seguintes razões: a madeira de *E. citriodora* é de boa qualidade e superior a do *E. maculata*, mas tem o inconveniente de apresentar bolsas ou veias de resina (kino), que diminuem sua resistência; de outro lado, o *E. maculata*, embora tenha madeira de qualidade pouco inferior, não apresenta tais bolsas ou veias de resina. Felizmente, o híbrido entre as duas espécies acima mencionadas tem maior vigor que elas, boa qualidade de madeira e não apresenta os inconvenientes acima apontados.

Todavia, um dos problemas relativo ao manejo do híbrido é o da sua identificação fácil. A caracterização dos híbridos naturais em *Eucalyptus*, segundo PRYOR (1976), vem sendo feita essencialmente segundo três critérios.

O primeiro requerimento é verificar se o híbrido em questão apresenta uma morfologia intermediária entre os supostos pais; essa situação já foi encontrada com referência a várias partes ou órgãos da planta, como o comprimento do pecíolo da folha, tamanho da folha e comprimento do pedicelo ou pedúnculo da inflorescência, tamanho do fruto, tipo de casca, etc..

A segunda possibilidade é verificar a proximidade entre as espécies que tenham possibilidade de inter cruzarem-se, tanto pela afinidade sistemática, como também pela coincidência de tempo de floração.

O terceiro critério seria plantar as sementes dos supostos híbridos naturais e verificar a sua progênie. Isto poderia ser feito através de cruzamentos artificiais mas, por ser muito trabalhoso, a regra é colherem-se as sementes de polinização livre e plantá-las.

Neste último caso, naturalmente, além da autofecundação, haverá possibilidade de aparecerem descendentes provenientes de retrocruzamentos ou da geração F2. Todavia, o importante é que esse teste de progênie - caso estejamos face a um híbrido - irá exibir segregação e recombinação genética dos vários caracteres presentes nos supostos pais.

Constitui, assim, objetivo principal do presente trabalho examinar a possibilidade de distinguir as espécies parentais e seus híbridos naturais, utilizando, para isso, mensurações de fácil acesso de morfologia externa da árvore. O estudo foi desenvolvido aplicando-se técnicas de análise estatística multidimensional, utilizando-se como possíveis variáveis identificadoras mensurações da folha, do fruto e da semente das espécies parentais e de seus híbridos naturais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo, de caráter quantitativo e metodológico, foi desenvolvido, coletando-se material de 45 árvores, previamente identificadas, em igual número entre os três grupos: *E. citriodora*, *E. maculata* e híbridos naturais.

Foram, então, definidas as variáveis:

X_1 = comprimento da folha

leaf length

X_2 = largura máxima da folha

- X₃ = maximum leaf width
diâmetro máximo do fruto
maximum fruit diameter
- X₄ = diâmetro do opérculo
operculum diameter
- X₅ = comprimento do eixo maior da semente
maximum seeds axis length
- X₆ = comprimento do eixo menor da semente
minimum seed axis length

De cada variável foram obtidas 30 mensurações para cada uma das árvores, representadas, na análise, pelas suas médias aritméticas. As mensurações relativas às variáveis X₁ e X₂ foram efetuadas com a utilização de fita métrica e as demais ao estereoscópio, e em ambos os casos reduzidas à unidade milímetro.

Com vistas ao atendimento dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, foram obtidas transformações das séries de 15 observações sobre cada um dos grupos, sendo a análise subsequente elaborada a partir de logaritmos naturais.

A verificação de normalidade das variáveis nos diferentes grupos foi feita contra uma alternativa de assimetria através da estatística $\sum_{i=1}^k Y_i^2$, que se distribui como X^2 , com k graus de liberdade i = 1

(LEVY, 1974):

$$Y^2 = g_i^2 (n_i + 1) (n_i + 3) / 6 (n_i - 2)$$

$$g_i^2 = (m_{3i}^2) / (m_{2i}^3)$$

m_{ri} : i-ésimo momento centrado de ordem r
: 1th moment about the mean of order r

i = 1, 2,....., K : n.º de grupos
: group numer

Já o pressuposto de homogeneidade de matrizes de dispersão foi verificado através da estatística MC^{-1} , que se distribui como X^2 , com f graus de liberdade (MORRISON, 1967):

$$M = (\sum_i^k n_i) \ln |S| - \sum_i^k n_i \ln |S_i|$$

$$C^{-1} = 1 - [(2p^2 + 3p - 1) (\sum_i^k 1/n_i - 1/\sum_i^k n_i) / 6 (p + 1)(k - 1)]$$

$$f = \frac{1}{2} (k - 1) p (p + 1), \text{ onde :}$$

$|S|$ = determinante da matriz de dispersão combinada («dentro»)
determinant of the pooled dispersion matrix («within»)

$|S_i|$ = determinante da matriz de dispersão no i-ésimo grupo
determinant of the dispersion matrix of the i^{th} group

n_i = n.º de observações do i-ésimo grupo
number of observations of the i^{th} group

P = n.º de variáveis
Number variables

i = 1, 2, ..., k: n.º de grupos
: group number

Assim preparados, os dados experimentais foram analisados segundo procedimentos de análise estatística multidimensional (KRAMER, 1972; BOLCH & HUANG, 1974), estabelecendo-se pares de variáveis, cada um relativo à mesma estrutura: folha, fruto ou semente.

Tais procedimentos são utilizados com vistas à solução de problemas como:

Os grupos propostos, *E. citriodora* (I), *E. maculata* (II) e híbridos naturais (III), podem ou não serem reconhecidos quando são consideradas simultaneamente as variáveis relativas a cada uma das estruturas: folha, fruto e semente.

A solução é então obtida pelo contraste de vetores de médias com o recurso da estatística T^2 (Hotelling):

$$T^2 = \frac{n_I n_{II}}{n_I + n_{II}} (\underline{d} \underline{S}^{-1} \underline{d}'), \text{ onde}$$

\underline{d} = vetor de diferenças entre médias das variáveis envolvidas
vector of the differences between variable means

\underline{d}' = vetor transposto de \underline{d}
transposed of vector \underline{d}

\underline{S}^{-1} = inversa da matriz de dispersão «dentro»
inverse matrix of the «within» dispersion

n_I, n_{II} = n.º de observações das variáveis nos grupos I e II
number of observations of the variables in the groups I and II

A seguir, e nos casos em que a estatística T^2 mostre valores significativos, indicando diferenças entre médias de variáveis nos grupos, pode-se ter o problema de medir o afastamento entre tais grupos quanto às características examinadas.

Uma solução é obtida, calculando-se as Distâncias Generalizadas de Mahalanobis:

$$D^2 = \underline{d} \underline{S}^{-1} \underline{d}' \quad \text{quantidade definidas acima.}$$

Assim, tendo sido definidos e localizados os grupos, pode-se ter O problema de determinar, entre as variáveis utilizadas na análise, quais as contribuições de cada uma na constituição dos grupos.

Aqui, uma solução é alcançada obtendo-se as Funções Discriminantes Lineares (Fisher):

$$L = \sum_i^p \lambda_i x_i \quad i = 1, 2, \dots, p, : \text{n.o de variáveis}$$

number of variables

$$\lambda_i = \sum_j s^{ij} \underline{d}_j$$

\underline{d}_i = vetor de diferenças entre médias na i-ésima variável
vector of the differences between means of the ith variable

s^{ij} = elemento genérico de S^{-1}
element of S^{-1}

Os escores λ_i darão, de acordo com sua magnitude, a importância relativa de cada variável.

Resta finalmente o problema de, apresentado um novo indivíduo, determinar em qual dos grupos deve ser colocado. Para isso, calcula-se o valor de L^* que, para dois grupos, assume a formulação:

$$L^* = \frac{1}{2} (\lambda_1, \lambda_2) \begin{bmatrix} -\bar{X}_1 & -\bar{X}_2 \\ \bar{X}_1 + \bar{X}_2 & \bar{X}_1 + \bar{X}_2 \end{bmatrix}, \text{ onde}$$

λ_i = escores discriminantes de x_i
discriminant scores of x_i

$-\bar{X}_1 \quad -\bar{X}_2$ = médias de x_i nos grupos I e II
 $\bar{X}_1 + \bar{X}_2$ means of x_i in the groups I and II

$i: 1, 2, \dots, p, =$ n.º de variáveis
number of variables

Quando $L \geq L^*$ o novo indivíduo será localizado no grupo I e se $L < L^*$ no grupo II.

3. RESULTADOS

A título de descrição estatística, a tabela 1 mostra as médias e coeficientes de variação por variável, para cada um dos grupos.

TABELA 1. Médias e coeficientes de variação, por variável para os três grupos examinados.

TABLE 1. Means and coefficients of variation, by variables for the three groups.

Variáveis	GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
	x	c.v.	x	c.v.	x	c.v.
X ₁	4,970	0,031	5,234	0,020	5,113	0,014
X ₂	2,596	0,065	3,148	0,059	2,896	0,084
X ₃	2,304	0,028	2,322	0,042	2,230	0,030
X ₄	1,824	0,056	1,847	0,079	1,715	0,041
X ₅	1,440	0,078	1,472	0,052	1,503	0,062
X ₆	0,880	0,092	0,831	0,090	0,831	0,092

(Valores expressos em logarítmos naturais, a partir de mensurações em mm.)

A tabela 2 apresenta os resultados obtidos para o teste de normalidade, segundo o procedimento de LEVY (1974), que, ao nível de 0,05, revelam desvios não significativos da normalidade e também os resultados dos testes de homocedasticidade (MORRISON, 1967) das matrizes de dispersão para cada par de variáveis que, igualmente, mostraram-se não significativos ao nível de 0,05.

TABELA 2. Resultados do teste de normalidade (LEVY, 1974) para cada variável (X_i²) e teste de homogeneidade de matrizes de dispersão (MORRISON, 1967), .

TABLE 2. Values of the normality test (LEVY, 1974) for each variable (X_i²) and homogeneity test of the dispersion matrices (MORRISON, 1967), .

Estatística	Variáveis					
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆
	4,244 n.s.	2,421 n.s.	2,061 n.s.	2,558 n.s.	2,219 n.s.	0,692 n.s.
X ₁ ²	11,430 n.s.		10,101 n.s.		3,438 n.s.	
X ₂ ²						

n.s.: resultado não significativo ao nível de 0,05
non significant at 0,05 probability level.

Os resultados até aqui obtidos permitem sejam combinadas as matrizes de dispersão correspondentes à mesma estrutura da planta, obtendo-se as matrizes de dispersão «dentro» de cada grupo. A tabela 3 resume tais matrizes e suas respectivas inversas.

TABELA 3. Matrizes de dispersão «dentro» de cada grupo e sua correspondentes inversas, para cada estrutura da planta.

TABLE 3. «Within» dispersion matrices of each group and its inverses, for each variables.

$$\begin{array}{l}
 S_{(I)} = \begin{array}{l} X_1 \\ X_2 \end{array} \begin{bmatrix} 0,013368 & \\ 0,004397 & 0,040997 \end{bmatrix} \quad S_{(I)}^{-1} = \begin{bmatrix} 77,499054 & \\ -8,311909 & 25,270321 \end{bmatrix} \\
 S_{(II)} = \begin{array}{l} X_3 \\ X_4 \end{array} \begin{bmatrix} 0,006007 & \\ 0,006428 & 0,012438 \end{bmatrix} \quad S_{(II)}^{-1} = \begin{bmatrix} 376,969969 & \\ -194,727272 & 182,030303 \end{bmatrix} \\
 S_{(III)} = \begin{array}{l} X_5 \\ X_6 \end{array} \begin{bmatrix} 0,009166 & \\ 0,005268 & 0,005972 \end{bmatrix} \quad S_{(III)}^{-1} = \begin{bmatrix} 221,185185 & \\ -195,11111 & 339,481481 \end{bmatrix}
 \end{array}$$

A seguir, com recurso da estatística T^2 - Hotelling (KRAMER, 1972), os vetores de médias foram comparados, em cada uma das estruturas das plantas, obtendo-se os resultados da tabela 4.

TABELA 4. Resultados da estatística T^2 (Hotelling) para comparação de vetores de médias entre os três grupos, baseada em cada estrutura.

TABLE 4. Values of T^2 (Hotelling) statistics for comparing vectors of means between the three groups, based on each variable.

Grupos	(X ₁ , X ₂)		(X ₃ , X ₄)		(X ₅ , X ₆)	
	I	II	I	II	I	II
II		80,132*		0,409 n.s.		12,349**
III	23,678*	16,692*	8,247*	12,260*	21,356*	1,490 n.s.

* : resultado significativo ao nível de 0,05.

: significant at 0,05 probability level.

n.s. : resultado não significativo ao nível de 0,05.

: non significant at 0,05 probability level.

Assim, comprovada a existência de diferenças entre vetores de médias para os três grupos, as distâncias generalizadas D^2 Mahalanobis (KRAMER, 1972) foram calculadas para os contrastes significativos, obtendo-se os resultados que compõem a tabela 5.

TABELA 5. Valores estatística D^2 (Mahalanobis) para os grupos de contrastes significativos entre vetores de médias.

TABLE 5. Values of D^2 (Mahalanobis) statistics for the groups of significant contrast between means vectors.

Grupos	(X_1, X_2)		(X_3, X_4)		(X_5, X_6)	
	I	II	I	II	I	II
II	10,684		-		1,646	
III	3,157	2,226	1,100	1,635	2,848	-

Na sequência da análise, as funções discriminantes lineares foram calculadas para os contrastes significativos entre grupos, em cada uma das estruturas da planta, e são resumidas na tabela 6, que inclui, ainda, os valores de comparação. Tais valores permitem separar indivíduos em grupos. Para cada comparação, um indivíduo pertence ao primeiro grupo se $L > L^*$ e ao segundo $L < L^*$ (BOLCH & HUANG, 1974).

Finalmente, as figuras 1, 2 e 3 trazem um resumo bidimensional de cada estrutura, através de elipses equiprováveis (DEFRISSÉ GUSSENHOVEN, 1955), de coeficientes de equiprobabilidade de 0,95, para cada grupo.

TABELA 6. Funções discriminantes lineares e seus valores de contraste (L^*) para cada estrutura para as comparações significativas entre grupos.

TABLE 6. Linear discriminant functions and their contrast values (L^*) for each variable for comparison between groups.

Contrastes	Funções Discriminantes Lineares	L^*
I x II	$L_1 = (-15,897) X_1 + (-11,748) X_2$	-114,847
	$L_3 = (-16,365) X_5 + (22,881) X_6$	-4,272
I x III	$L_1 = (-8,638) X_1 + (-6,387) X_2$	-61,087
	$L_2 = (6,905) X_3 + (5,335) X_4$	25,097
	$L_3 = (-22,842) X_5 + (28,851) X_6$	-8,944
II x III	$L_1 = (7,258) X_1 + (5,360) X_2$	53,751
	$L_2 = (9,175) X_3 + (5,982) X_4$	31,532

onde:

- L_1 = caracteres de folhas
= leaf characters
- L_2 = caracteres de frutos
= fruit characters
- L_3 = caracteres de sementes
= seed characters

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Esse tipo de análise, de utilização frequente em Ciências Biológicas, permite o exame simultâneo de um conjunto de caracteres, exigindo um prévio estudo do comportamento individual de cada uma destas características. Este exame, desenvolvido com vistas aos pressupostos básicos da análise estatística multidimensional, pode também sugerir agrupamento de caracteres a serem utilizados simultaneamente. Assim, por exemplo, o não cumprimento do pressuposto de homogeneidade de variâncias pelo

conjunto inicial de seis variáveis levou a estudos, em separado, das folhas, dos frutos e das sementes.

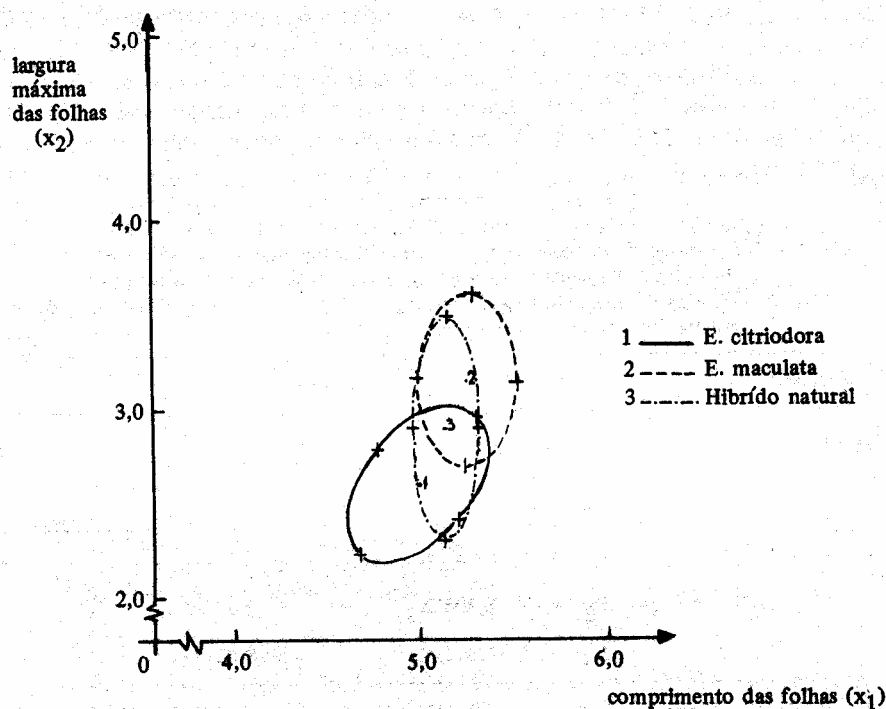


FIGURA 1. Elipses equiprováveis de coeficiente 0,95, para caracteres da folha de cada um dos grupos

FIGURE 1. Contourn ellipsis with coefficient 0,95, for leaf characters of each group.

Da análise como um todo, além do atendimento aos objetivos iniciais de comparação entre grupos, podem ainda resultar informações quanto às características que devam ou não ser consideradas com propósitos de identificação, caso mostrem ou não contrastes significativos.

Finalmente, diante do objetivo proposto e dos resultados alcançados pode-se concluir, ao nível de significância de 0,05 que os híbridos naturais entre *E. citriodora* e *E. maculata* podem ser distinguidos das espécies parentais, através das características de comprimento e largura de suas folhas, características que ainda distinguem as espécies parentais.

Quando são examinadas as características diâmetro máximo e diâmetro do opérculo, a distinção entre as espécies parentais não é conseguida, obtendo-se, entretanto, a diferenciação entre elas e os híbridos naturais.

Por outro lado, quando as características de comprimento dos eixos maior e menor das sementes são examinadas, observa-se que os híbridos naturais não se distinguem de *E. maculata*, sendo, entretanto, possível a distinção entre as espécies parentais, bem como entre os híbridos e *E. citriodora*.

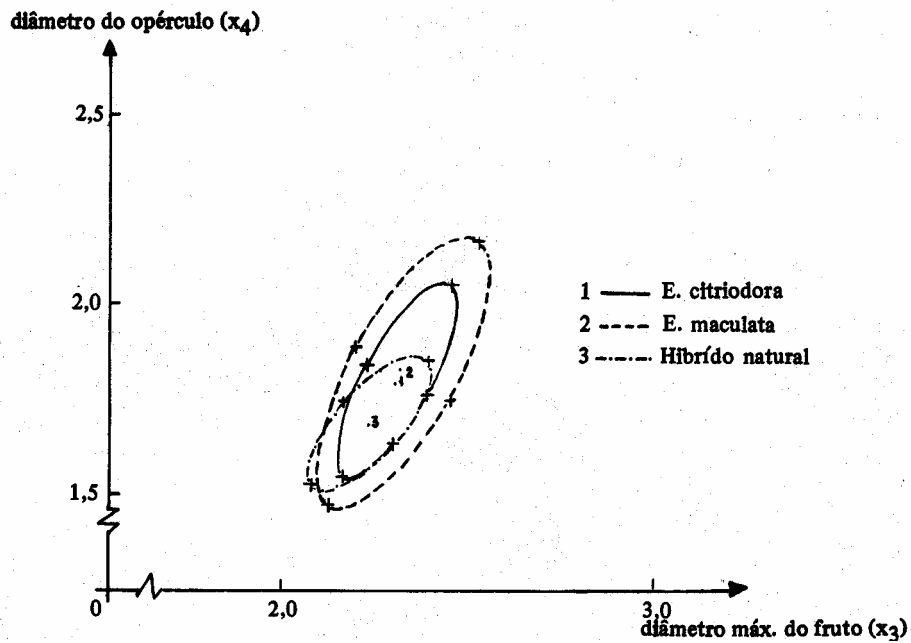


FIGURA 2. Elipses equiprováveis de coeficiente 0,95, para caracteres do fruto de cada um dos grupos.

FIGURE 2. Contourn ellipsis with coefficient 0,95, for fruit characters of each group.

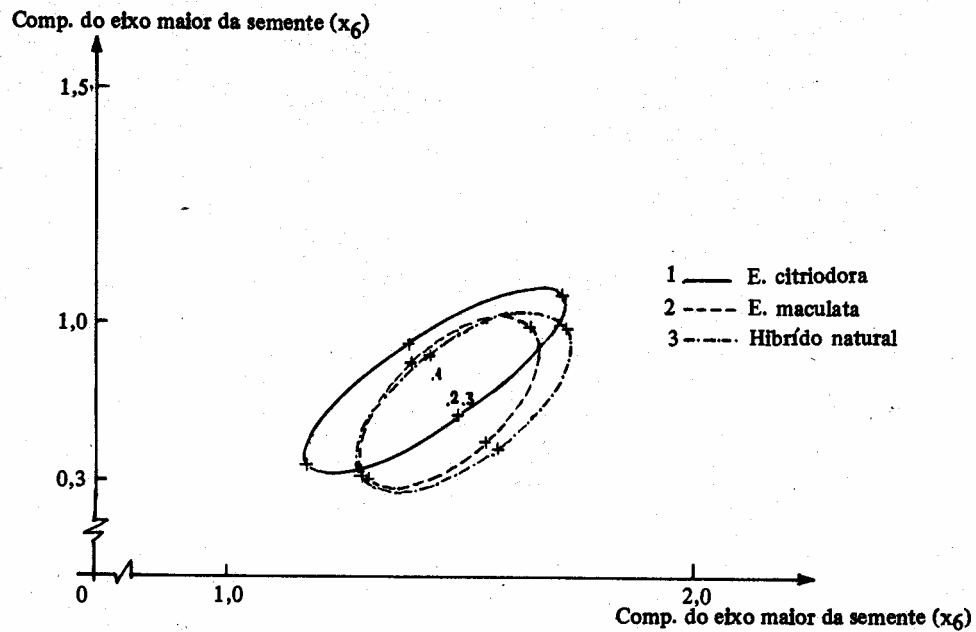


FIGURA 3. Elipses equiprováveis de coeficiente 0,95, para caracteres da semente de cada um dos grupos.

FIGURE 3. Contourn ellipsis with coefficient 0,95, for seed characters of each group.

5. RESUMO

O presente trabalho teve por finalidade estudar a possibilidade da distinção entre as espécies parentais de *Eucalyptus citriodora* e *E. maculata* e seus híbridos naturais, utilizando, para isso, mensurações de fácil acesso de morfologia externa da árvore. Os caracteres examinados foram as dimensões da folha, da semente e do fruto e a diferenciação entre eles foi feita por meio de técnicas da análise estatística multidimensional.

6. AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a correta identificação do material botânico estudado ao Eng. Agr. Gilberto R.A. Cavalcanti - Chefe da Seção de Botânica do Horto Florestal «Navarro de Andrade» de Rio Claro - SP.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLCH, B.W. & HUANG, C.J. - **Multivariate statistical: methods for business and economics**. Princeton, Prentice Hall, 1974.
- DEFRISSÉ-GUSSENHOVEN, E. - Ellipses equiprobables et taux d'éloignement en biometrie. **Bulletin. Institute Royal Scientifique Naturel**, Belgique, **31**(26), 1955.
- KRAMER, C.Y. - **A first course in methods of multivariate analysis**. Morgantown, Virginia Polytechnic Institute and State University Polytechnic Institute, 1972.
- LARSEN, E. - A study of the variability of *Eucalyptus maculata* Hook and *E. citriodora* Hook. **Forest Research Institute leaflet**, Canberra, 95: 1-23, 1965.
- LEVY, J .K. - Testing that k independent random samples were drawn from k normal populations. **Psychometrika**, Princeton, **39**(3): 363, 1974.
- MORRISON, D.F. - **Multivariate statistical methods**. San Francisco, McGraw-Hill, 1967.
- PRYOR, L.D. - **The biology of Eucalyptus**. London, Edward Arnold, 1976. 82p.