

TAMANHO AMOSTRAL PARA CONSERVAÇÃO *EX SITU* DE ESPÉCIES ARBÓREAS COM SISTEMA MISTO DE REPRODUÇÃO*

Alexandre Magno SEBBENN**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar o número de plantas por progênie e o número de progênies necessárias para a conservação *ex situ* de populações de espécies arbóreas, com sistema misto de reprodução. O número de progênies foi determinado da relação entre o tamanho efetivo alvo da conservação (N_e) e o tamanho efetivo de variância ($\hat{N}_{e(v)}$) de uma simples progênie de polinização aberta. O $\hat{N}_{e(v)}$ foi estimado do coeficiente médio de coancestria dentro de progênies (θ), calculado de parâmetros do sistema de reprodução a partir de dados de marcadores genéticos, em espécies arbóreas folhosas e coníferas, admitindo-se moderados níveis de endogamia (0,1) e coancestria (0,125) na população alvo da coleta de sementes. Em termos de eficiência amostral, não existem grandes vantagens em conservar mais de 20 plantas por progênie, mesmo em populações com moderados níveis de endogamia (0,1) e coancestria (0,125). Não existem diferenças no tamanho amostral entre folhosas e coníferas. Contudo existem grandes diferenças entre espécies de ambos os grupos. O número de progênies necessárias para reter o tamanho efetivo de 50 variou entre espécies folhosas e coníferas de 16,5 a 34,8 e 16,7 a 31,6, com média de 23,7 e 21,3, respectivamente. Assim, o tamanho amostral de 35 progênies e 20 plantas por progênie é suficiente para atender objetivos de conservação *ex situ*, no curto prazo, de espécies de sistema misto de reprodução, mas com altas taxas de cruzamentos ($t > 0,8$).

Palavras-chave: amostragem; sistema de reprodução; endogamia; coancestria; tamanho efetivo de variância.

1 INTRODUÇÃO

Inúmeras espécies arbóreas ao redor do mundo encontram-se em perigo de extinção, devido à forte e contínua pressão antrópica sobre as florestas naturais. Existem, basicamente, duas estratégias para salvar essas espécies, a conservação *in situ* e a *ex situ*. A *in situ* visa reter e manter parte da variabilidade genética de uma espécie no seu ambiente natural e a *ex situ* fora deste.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the number of trees per family and the number of families necessary for *ex situ* conservation of a simple population of tree species with mixed-mating system. The numbers of families per population were estimated by the relation between effective population size (N_e) target of conservation and the variance effective population size ($\hat{N}_{e(v)}$) of a family. The $\hat{N}_{e(v)}$ was estimated from average of coefficient of coancestry within open-pollinated families, calculated from parameters of mating system by genetic marker data in coniferous and evergreen trees species, assuming moderate levels of inbreeding (0.1) and coancestry (0.125) in population target of seeds collect. The results showed that there was no sampling advantages in conserving more than 20 plants per family, even in populations with moderates levels of inbreeding (0.1) and coancestry (0.125). There was no difference in sample size found for evergreen and coniferous species. However, there are great differences among species in the number of families for conservation. The family number necessary to retain the effective population size at 50 ranged in evergreen and coniferous from 16.5 to 34.8 and 16.7 to 31.6, with average at 23.7 and 21.3, respectively. Thus, the conservation of 20 trees per family and 35 families per population is enough to *ex situ* conservation, in short time view, from species with mixed mating system, but high outcrossing rate ($t > 0.8$).

Key words: sampling; mating system; inbreeding; coancestry; variance effective population size.

A *in situ* é a forma ideal para conservação, visto que pode preservar não somente o potencial evolutivo de uma amostra da espécie alvo, mas também a população inteira, bem como de outros organismos com os quais ela interage, convive ou depende, como por exemplo, insetos ou animais polinizadores. A conservação *ex situ* deve ser vista como uma forma complementar da conservação *in situ*, devendo ser utilizada quando a conservação *in situ* é insuficiente ou impraticável (Graudal *et al.*, 1997).

(*) Aceito para publicação em dezembro de 2003.

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

Tamanhos amostrais para a conservação *ex situ* de espécies arbóreas de sistema misto de reprodução são o tema deste trabalho. O tempo que a variabilidade genética pode ser conservada *ex situ* está relacionado com o tamanho efetivo retido no banco que, por sua vez, depende das características genéticas, demográficas e reprodutivas da população alvo de conservação, do tamanho amostral retido e dos níveis de endogamia e coancestria existentes dentro das progênies. Pequenas amostras sofrem perdas de variabilidade por deriva genética em poucas gerações reduzindo o tamanho efetivo (Frankel & Soulé, 1981; Eriksson, 1996). A endogamia e a coancestria em progênies de polinização aberta são determinadas pela estrutura genética espacial e pela forma como os gametas são combinados nas populações para formar as gerações subsequentes. Se a população alvo se reproduzir parcialmente por autofecundações e o parentesco interno for maior do que o esperado pela pressuposição de distribuição aleatória de genótipos (populações não geneticamente estruturadas), certos níveis de endogamia podem ser gerados nas progênies, tanto por autofecundação como por cruzamentos aleatórios, reduzindo o tamanho efetivo da amostra coletada.

Autofecundações e cruzamentos entre parentes têm sido detectados em diversas espécies arbóreas (O'Maley *et al.*, 1988; Murawski *et al.*, 1994; Sampson *et al.*, 1995; Mitton *et al.*, 1997; Sebbenn *et al.*, 2001). A taxa de autofecundação depende de mecanismos de auto-incompatibilidade e, em geral, não é superior a 30% em espécies arbóreas. O cruzamento entre parentes, em espécies arbóreas, está associado ao seu hábito perene (longo ciclo de vida), permitindo que suas gerações se sobreponham e à dispersão de sementes próxima à árvore matriz, o que aumenta a probabilidade de filhos se estabelecerem nas vizinhanças da mãe, causando a formação de estrutura genética espacial dentro das populações. Esse fenômeno tem sido detectado em diversas espécies, como em *Acer saccharum* M. (Perry & Knowles, 1991), *Quercus leavis* W. (Berg & Hamrick, 1995), *Rhus trichocarpa* Miq. (Chung *et al.*, 1999), *Eurya japonica* T. (Chung & Epperson, 2000), *Machaerium villosum* V. (Giudice Neto & Kageyama, 2000), *Alnus glutinosa* G. (Gömöry & Paule, 2002) e *Abies balsamiae* (L.) Mill. (Shea & Furnier, 2002).

Estimativas do coeficiente de parentesco (r_{xy}), em populações naturais, têm revelado, algumas vezes, valores altos e próximos ao esperado entre dois indivíduos meios-irmãos (0,25). Por exemplo, Coles & Fowler (1976) estimaram, em populações de *Picea glauca* (M.) Voss, coeficientes de parentesco de 0,30 e 0,23. Schuster & Mitton (1991) estimaram parentesco de 0,19 em população de *Pinus flexilis* J. e Ledig *et al.* (2001) de 0,232 e 0,280 em populações de *Pinus pinceana* G. Portanto, o cruzamento entre esses indivíduos pode gerar endogamia biparental nas progênies, variando de 0,095 a 0,15.

Estudos em coníferas também têm detectado que grande proporção dos cruzamentos ocorre dentro de pequenas vizinhanças. Em *Pinus attenuata* L. (Burczyk *et al.*, 1996) e *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) F. (Burczyk & Prat, 1997) foram observados que aproximadamente 40% dos cruzamentos ocorriam entre vizinhos localizados dentro de áreas de raio de, no máximo, 30 m. Assim, em populações estruturadas, grandes proporções dos cruzamentos podem ocorrer entre vizinhos aparentados e gerar endogamia nas progênies, mesmo que a espécie apresente auto-incompatibilidade, ou seja, dióica. Ainda, estudos com progênies de polinização aberta de espécies arbóreas baseados em modelos que descrevem o parentesco entre plantas dentro de progênies em função do parental materno e paterno, como o modelo de cruzamentos correlacionados (Ritland, 1989), vêm indicando que essas são formadas por misturas de irmãos-completos, meios-irmãos e irmãos de autofecundação (Muona *et al.*, 1991; El-Kassaby & Jaquish, 1996; Mitton *et al.*, 1997; Ledig *et al.*, 1999; Millar *et al.*, 2000; Sebbenn *et al.*, 2000; Butcher & Willians, 2002). Autofecundações e cruzamentos entre parentes geram endogamia nas progênies e combinados com cruzamentos correlacionados aumentam a coancestria acima do esperado em progênies de meios-irmãos. Conseqüentemente, os efeitos desses fatores, tanto isolados como combinados, reduzem o tamanho efetivo de variância e levam à necessidade da coleta de maiores tamanhos amostrais para a conservação *ex situ* do que seriam requeridos, caso os cruzamentos fossem perfeitamente aleatórios.

Os objetivos deste trabalho foram determinar o número de plantas por progênie e o número de progênies de polinização aberta, necessárias para a conservação *ex situ* de uma população de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução, espécies que se reproduzem por combinações de autofecundação e cruzamentos (aleatórios e biparentais). Para tanto, foram utilizados resultados de estudos do sistema de reprodução em espécies arbóreas baseados em dados de marcadores genéticos codominantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O tamanho amostral para a conservação *ex situ* de populações foi determinado a partir da estimativa da coancestria média entre plantas dentro de progênies e da relação entre o tamanho efetivo alvo da conservação e o tamanho efetivo de variância média de uma progênie de polinização aberta.

2.1 Tamanho Efetivo Alvo ou de Referência

O tamanho efetivo de 50 tem sido sugerido como suficiente para manter o coeficiente de endogamia à uma taxa de 1% por geração, até 10 gerações, em locos com dois alelos de espécies diplóides, com gerações discretas (Frankel & Soulé, 1981). Esse tamanho conserva muito dos genes de uma população e pode ser suficiente para evitar os danos da depressão por endogamia no curto prazo, mas não é suficiente para manter por longo tempo grande proporção da variação genética. Para esse propósito, Franklin (1980) sugeriu o tamanho efetivo de 500. Neste trabalho, como objetivo, foi adotada a conservação no curto prazo ($N_e = 50$), visto que a conservação no longo prazo deve ser planejada primariamente *in situ*. Entretanto, devido à sobreposição de gerações nas espécies arbóreas, o que pode reduzir o tamanho efetivo de variância, pela geração de endogamia biparental, também foram considerados outros tamanhos efetivos como alvo da conservação, 100 e 150.

2.2 Tamanho Efetivo de Variância

O tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) mede, em termos de deriva genética, a representatividade genética de uma amostra de estruturas de progênies retirada de uma população ancestral ideal. A população ideal consiste de uma população base de tamanho infinito, subdividida em infinitas subpopulações de cruzamentos aleatórios, cada uma com número (N) constante de indivíduos reprodutivos por geração. Em cada subpopulação, os indivíduos produzem um infinito número de gametas masculinos e femininos dentro de um grande conjunto do qual apenas $2N$ gametas são amostrados e unidos para produzir os N zigotos da geração seguinte. Todos indivíduos sobrevivem do nascimento à fase adulta. Ambas as amostras dos gametas e sua união (incluindo autofecundação) são aleatórias, sendo que todos os indivíduos têm iguais chances de produzirem progênies e a distribuição do número de progênies é multinomial. Mudanças sistemáticas nas freqüências alélicas (seleção) são excluídas nessa população idealizada, as gerações não se sobrepõem e apenas locos autossomais são considerados (Caballero, 1994).

O tamanho efetivo de variância de uma simples progênie foi calculado com base em Cockerham (1969), da variância da freqüência de um alelo p ($\hat{\sigma}_p^2$), em populações de tamanho n , coancestria θ e endogamia \hat{F} :

$$\hat{\sigma}_p^2 = \left[\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n} \right] \hat{p}(1-\hat{p}).$$

Como a estimativa da variância amostral da freqüência de um alelo p ($\hat{\sigma}_p^2$), em uma população idealizada é,

$$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{2N}$$

e, como na população de referência $N = N_e$, pode-se escrever $\hat{\sigma}_p^2$ em função de N_e ,

$$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{2N_{e(v)}}$$

Assim,

$$\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{2\hat{N}_{e(v)}} = \left[\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n} \right] \hat{p}(1-\hat{p})$$

e,

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n}} \quad [1].$$

Sendo \hat{F} o coeficiente de endogamia na progênie que, em indivíduos diplóides, é igual à coancestria dos parentais cruzados ($\hat{\theta}_p$), logo, $\hat{F} = \hat{\theta}_p$.

Amostrando o mesmo número de plantas por progênie (n) e admitindo que a coancestria média e a endogamia dentro das progênies é a mesma, o tamanho efetivo de variância da população pode ser obtido simplesmente multiplicando do número de progênies amostradas (m) pela expressão 1,

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5m}{\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n}} \quad [2].$$

Um estimador de $\hat{N}_{e(v)}$ que considera variações no tamanho das progênies é descrito por Vencovsky (1997).

2.3 Número de Progênies para a Conservação *Ex Situ*

Isolando m , na expressão 2, o número de progênies ou o número de árvores necessárias para a coleta de sementes, para a conservação *ex situ*, pode ser calculado para qualquer tamanho efetivo de referência por,

$$\hat{m} = \hat{N}_{e(v)} \left[2\hat{\theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{n} \right] \quad [3].$$

2.4 Coancestria Dentro de Progênies de Polinização Aberta

O coeficiente de coancestria (θ) difere do coeficiente de parentesco (r_{XY}). O coeficiente de coancestria entre dois indivíduos é a probabilidade de que dois alelos homólogos, retirados aleatoriamente de dois indivíduos, X e Y , são idênticos por descendência, isto é, são cópias de um mesmo alelo de um antecessor recente. O coeficiente de parentesco (r_{XY}), do indivíduo X para o indivíduo Y , é a proporção de alelos em Y que são idênticos por descendência aos alelos presentes em X ; equivalentemente, essa é a probabilidade de que um alelo aleatório amostrado em Y é idêntico por descendência a um alelo presente em X . Em espécies diplóides não endogâmicas, $r_{XY} = r_{YX}$ e, assim, um alelo aleatório de Y tem duas chances de ser idêntico a um alelo em X : este pode ser idêntico a um alelo homólogo de X , ou ao outro. Se X não é endogâmico, essas duas probabilidades são independentes e mutuamente exclusivas e como cada homólogo tem a probabilidade θ de ser idêntico por descendência, o parentesco é duas vezes essa probabilidade, $r_{XY} = 2\theta$ (Lynch & Walsh, 1998). Essa definição de coancestria inclui o caso em que os dois indivíduos são idênticos, quando se obtém a autocoancestria. A coancestria é equivalente a endogamia que poderia ocorrer nas progênies após os cruzamentos de todos os pares de indivíduos considerados, incluindo os indivíduos consigo mesmo. A autocoancestria é igual ao coeficiente de endogamia após a autofecundação (Lindgren *et al.*, 1996).

Em progênies apresentando sistema misto de reprodução o coeficiente de parentesco (r_{XY}), entre plantas dentro de progênies, pode ser calculado conforme Ritland (1989), por,

$$\hat{r}_{XY} = 0,25(1 + \hat{F}_p)[4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)]$$

sendo, \hat{F}_p o coeficiente de endogamia da geração parental, \hat{s} é taxa de autofecundação ($1 - \hat{t}_m$), \hat{t}_m é taxa de cruzamento multiloco, \hat{r}_p é a correlação de paternidade, e \hat{r}_s é a correlação de autofecundação.

A correlação \hat{r}_p mede a proporção de progênies de cruzamentos que são irmãos-completos. A correlação \hat{r}_s mede a probabilidade de amostrar-se dois indivíduos em uma progênie e ambos serem de cruzamento ou de autofecundação (Ritland, 1989). Em termos práticos, \hat{r}_s mede a variação na taxa de cruzamento individual da população considerada (Sun & Ritland, 1998). Como em espécies diplóides, o coeficiente de parentesco (r_{iv}) é o dobro do coeficiente de coancestria (θ), tem-se que, $\hat{\theta} = \hat{r}_{iv} / 2$.

2.5 Dados

Para estimar o coeficiente de coancestria entre plantas dentro de progênies de polinização aberta, foram compilados resultados de 28 trabalhos com marcadores genéticos codominantes (isoenzimas e microssatélites), relatando parâmetros do sistema de reprodução, em espécies arbóreas (TABELA 1). Em 27 trabalhos os parâmetros foram estimados dos modelos de cruzamentos mistos (Ritland & Jain, 1981) e cruzamentos correlacionados (Ritland, 1989). Foram selecionados trabalhos que estimaram simultaneamente a taxa de cruzamento multiloco (\hat{t}_m) e a correlação de paternidade (\hat{r}_p). Quando a correlação de autofecundação (\hat{r}_s) também era apresentada, a mesma foi utilizada nas estimativas. Quando o trabalho reportava resultados de mais de uma população ou evento reprodutivo ou, ainda, a espécie foi objeto de mais de um estudo, foi calculada a média aritmética dos parâmetros. Também foram calculadas a média aritmética e o erro padrão das estimativas de \hat{t}_m , \hat{r}_s e \hat{r}_p , agrupando-se as espécies em: folhosas, coníferas e arbóreas (folhosas + coníferas). O argumento para o agrupamento é a diferença no processo de polinização, vento para a maioria das coníferas, e insetos e animais para a maioria das folhosas, o que pode ter efeitos distintos sobre a coancestria dentro das progênies.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tamanho Efetivo em Progênies de Meios-Irmãos

Em espécies arbóreas, sementes para a conservação *ex situ* são geralmente coletadas de polinização aberta, pressupondo que em populações naturais não existam parentesco e endogamia, que os cruzamentos sejam aleatórios e que cada semente de uma simples progênie receba pólen de um pai diferente, sendo, portanto, de meios-irmãos o parentesco entre plantas dentro de progênies. Se essas pressuposições forem realmente verdadeiras, a probabilidade de dois alelos homólogos, amostrados aleatoriamente em dois indivíduos de uma mesma progênie, serem idênticos por descendência é 0,125 (coancestria de meios-irmãos). A identidade por descendência dos alelos é a probabilidade de ambos os indivíduos, na progênie, terem recebido a mesma cópia de um alelo de origem materna. Se infinitas sementes forem coletadas de cada árvore, o tamanho efetivo de variância de uma simples progênies será igual a 4 ($N_{e(v)} = 0,5 / \theta$), considerando que na expressão 1, os termos $(n - 1)/n$ e $(1 + F_p)/2n$ aproximam-se da unidade e de zero, respectivamente, quando $n \rightarrow \infty$. Neste caso, $N_{e(v)}$, confunde-se com a definição de “número *status*” (N_s - Lindgren *et al.*, 1996) para uma simples progênie e o número de progênies de tamanho infinito de uma população ideal necessários para reter, por exemplo, o tamanho efetivo de 50, é 13 ($50/4 = 12,5$). Entretanto, se o número de plantas conservadas por progênies for pequeno, o tamanho efetivo de variância de cada progênie não será mais 4 (FIGURA 1) e o número de progênies necessárias para a conservação será maior do que 13. Por exemplo, em uma progênie de cinco plantas, o tamanho efetivo de variância é 2,5, ou 37,5% menor do que o esperado em progênies de tamanho infinito, e são necessárias sementes de 20 árvores para reter o tamanho efetivo de 50 ($50/2,5$). A causa é, que quando são usados pequenos tamanhos amostrais, ocorre variação nas frequências alélicas da amostra em relação à população de referência. Assim, amostrando poucas plantas por progênie, maior número de progênies deverá ser conservado.

TABELA 1 – Estimativas do coeficiente médio de coancestria (θ) dentro de progênie e número de progênies (\hat{m}), necessárias para reter o tamanho efetivo de 50, quando 20 plantas são amostradas em cada progênie.

Espécies folhosas	P	l	\hat{t}_m	\hat{r}_p	\hat{r}_s	θ^*	θ^{**}	\hat{m}^{**}	Referências
<i>Acacia melanoxylon</i>	2	12	0,870	0,177	---	0,176	0,194	21,2	Muona <i>et al.</i> (1991)
<i>Cariniana legalis</i>	3	14	0,956	0,277	0,090	0,172	0,189	20,8	Sebbenn <i>et al.</i> (2000)
<i>Caryocar brasiliense</i>	4	10 ^M	1,000	0,156	0,110	0,145	0,159	16,5	Collevatti <i>et al.</i> (2001)
<i>Cecropia pachystachya</i>	2	7	1,000	0,336	---	0,167	0,184	18,9	Ribas (2003)
<i>Cedrela fissilis</i>	1	11	0,882	0,125	0,149	0,171	0,188	19,2	Kageyama <i>et al.</i> (2003)
<i>Chorisia speciosa</i>	1	6	0,816	0,875	0,160	0,275	0,302	31,5	Souza <i>et al.</i> (2003)
<i>Cryptocarya moschata</i>	1	7	0,862	0,369	0,059	0,199	0,219	23,6	Moraes (1997)
<i>Dryobalanops aromatica</i>	4	5	0,725	0,325	---	0,225	0,247	24,9	Lee (2000)
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	4	5	0,878	0,356	0,199	0,202	0,222	23,9	Rocha & Aguilar (2001)
<i>Eschweilera ovata</i>	2	10	0,992	0,500	0,103	0,189	0,208	21,1	Gusson (2003)
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	2	8	0,961	0,868	0,102	0,255	0,281	29,5	Seoane <i>et al.</i> (2001)
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	4	12	0,953	0,172	---	0,157	0,172	19,2	Butcher & Willians (2002)
<i>Eucalyptus marginata</i>	4	4	0,810	0,363	0,750	0,244	0,269	28,3	Millar <i>et al.</i> (2000)
<i>Eucalyptus rameliana</i>	1	6	0,890	0,260	---	0,180	0,198	21,6	Sampson (1998)
<i>Euterpe edulis</i>	4	6 ^M	0,888	0,831	0,413	0,306	0,337	34,8	Gaiotto (2001); Seoane <i>et al.</i> (2003)
<i>Genipa americana</i>	1	4	0,984	0,785	0,108	0,243	0,267	28,2	Sebbenn <i>et al.</i> (1998)
<i>Hymenaea courbaril</i>	1	4	0,991	0,146	0,006	0,145	0,160	18,0	Santos (2002)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	2	6	0,925	0,544	0,105	0,213	0,234	25,1	Moraes <i>et al.</i> (2003)
<i>Parapitadenia rigida</i>	2	4	0,973	0,358	0,191	0,186	0,204	22,2	Ribas (1999)
<i>Paquira quinata</i>	2	7	0,846	0,605	---	0,221	0,243	24,5	Fuchs <i>et al.</i> (2003)
<i>Prosopis juliflora</i>	3	12	0,974	0,131	0,122	0,149	0,164	18,4	Oliveira (1999)
<i>Tabebuia cassinoides</i>	2	12	0,839	0,421	0,061	0,209	0,230	24,7	Sebbenn <i>et al.</i> (2001)
<i>Teobroma grandiflorum</i>	1	10 ^M	1,000	0,930	---	0,241	0,265	28,0	Alves <i>et al.</i> (2003)
<i>Trema micranta</i>	2	13	0,892	0,604	0,220	0,218	0,240	24,2	Ribas (2003)

continua

continuação – TABELA 1

Espécies folhosas	P	l	\hat{t}_m	\hat{r}_p	\hat{r}_s	θ^*	θ^{**}	\hat{m}^{**}	Referências
<i>Abies amabilis</i>	4	9	0,808	0,133	---	0,188	0,207	21,1	El-Kassaby <i>et al.</i> (2003)
<i>Larix occidentalis</i>	2	7	0,871	0,047	---	0,164	0,180	19,9	El-Kassaby & Jaquish (1996)
<i>Picea mariana</i>	2	8	0,994	0,162	---	0,147	0,161	16,7	Perry & Bousquet (2001)
<i>Pinus martinezii</i>	2	5	0,558	0,389	---	0,275	0,303	31,6	Ledig <i>et al.</i> (2000)
<i>Pinus pinceana</i>	2	23	0,870	0,187	---	0,177	0,195	21,3	Ledig <i>et al.</i> (2001)
<i>Pinus washoensis</i>	3	4 ^M	0,863	0,070	---	0,168	0,185	20,4	Mitton <i>et al.</i> (1997)
<i>Tsuga heterophylla</i>	4	11	0,928	0,035	---	0,147	0,162	16,8	El-Kassaby <i>et al.</i> (2003)

p = número de populações.

l = número de locos.

\hat{t}_m = taxa de cruzamento multiloco.

\hat{r}_p = correlação de paternidade.

\hat{r}_s = correlação de autofecundação.

(*) Estimado assumindo ausência de endogamia e coancestria ($F_p = \theta_p = 0$).

(**) Estimado assumindo moderados níveis de endogamia e coancestria ($F_p = 0,1$; $\theta_p = 0,125$).

M = Locos de microssatélites.

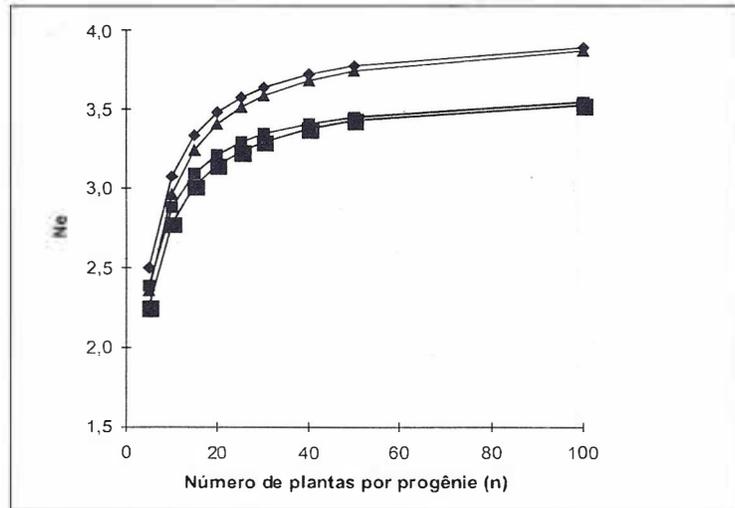


FIGURA 1 – Tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) de uma simples progênie de meios-irmãos em função do número de plantas amostradas por progênie (n) e dos coeficientes de endogamia (F_p) e coancestria (θ_p). (-◆- $F_p = \theta_p = 0$; -▲- $F_p = 0,1, \theta_p = 0$; -■- $F_p = 0, \theta_p = 0,125$; -■- $F_p = 0,1, \theta_p = 0,125$).

3.2 Endogamia e Coancestria na População de Referência

Outra fonte de variação no tamanho efetivo de variância de uma simples progênie de meios-irmãos é o coeficiente de endogamia (F_p) e coancestria (θ_p) da população de referência ou população a ser amostrada (FIGURA 2). Mesmo com a conservação de infinitas plantas por progênie, se os coeficientes F_p e θ_p forem maiores do que zero, o tamanho efetivo de variância será menor do que 4. O efeito da endogamia é mais pronunciado do que o da coancestria na geração parental. Em populações sem endogamia e com coancestria de meios-irmãos (0,125), o tamanho efetivo tende ao valor estimado em populações sem endogamia e coancestria, quando n aumenta. Em populações com endogamia, o tamanho efetivo de variância não atinge o valor 4, pois, quando $n \rightarrow \infty$, a parte $(1 + F)/2n$ da expressão 1, aproxima-se de zero e o tamanho efetivo torna-se função somente da coancestria dentro de progênie (θ). Como θ depende da endogamia da geração parental $[0,125(1 + F_p)]$; para cruzamentos aleatórios ou meios-irmãos], quanto maior F_p , menor o limite máximo do tamanho efetivo.

Com 10%, 50% e 100% de endogamia na população de referência os valores máximos do tamanho efetivo de uma simples progênie de tamanho infinito são 3,6, 2,7 e 2, respectivamente (FIGURA 2).

O número de progênie (m) de meios-irmãos necessário para reter o tamanho efetivo de 50, em populações com dois diferentes níveis de endogamia, F_p (0 e 0,1) e coancestria, θ_p (0 e 0,125) na população de referência é apresentado na FIGURA 3, em função do número de plantas amostradas por progênie (n). Esses níveis de endogamia foram considerados, dado que em populações naturais de espécies arbóreas, dificilmente a endogamia supera o patamar de 10% (Yanchuk, 2001) devido aos efeitos da depressão endogâmica, comum a essas espécies, que tendem a eliminar indivíduos endogâmicos entre a fase de plântula e a fase adulta. Já, a coancestria de 0,125 foi considerada, visto que corresponde à endogamia que poderia ser gerada nas progênie pelo cruzamento entre indivíduos meios-irmãos. Assim, uma taxa de endogamia de 0,125 nas progênie significa que a coancestria entre os parentais é de 0,125 (meios-irmãos) e, portanto, que o coeficiente de parentesco é de 0,25 ($r_{\text{gr}} = 2\theta$).

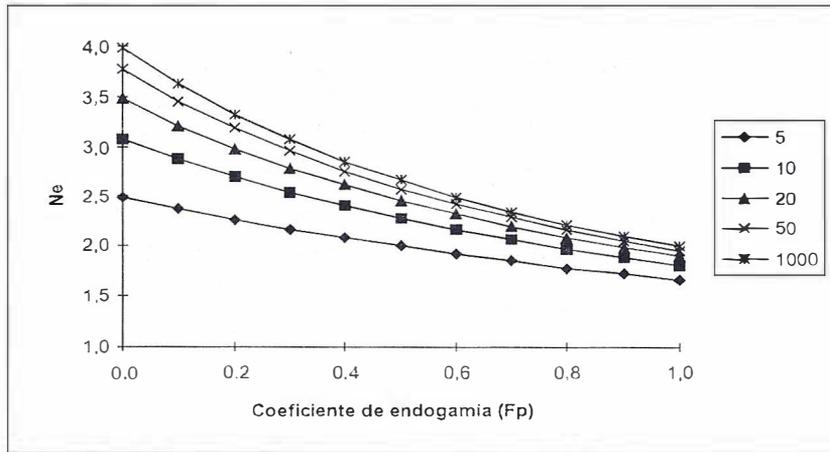


FIGURA 2 – Tamanho efetivo de variância ($N_{e(v)}$) de uma simples progênie de meios-irmãos em função do número de plantas amostradas por progênie (n) e do coeficiente de endogamia na geração parental (F_p).

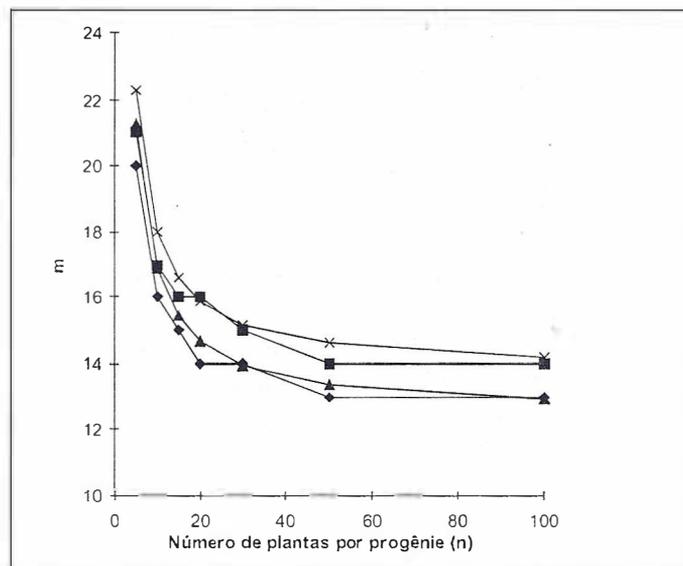


FIGURA 3 – Número de progênes (m) de meios-irmãos necessárias para reter o tamanho efetivo de 50, em populações com dois níveis de endogamia ($F_p = 0; F_p = 0,1$) e coancestria ($\theta_p = 0; \theta_p = 0,125$), em função do número de plantas amostradas por progênie (n). (-♦- $F_p = \theta_p = 0$; -▲- $F_p = 0,1, \theta_p = 0$; -■- $F_p = 0, \theta_p = 0,125$; -* - $F_p = 0,1, \theta_p = 0,125$).

Os resultados observados na FIGURA 3 demonstram que, quanto maior é o número de plantas amostradas por progênes (n), menor a taxa de endogamia (F_p) e o coeficiente de coancestria (θ_p) na população de referência, menor será o número de progênes

necessárias para reter o tamanho efetivo de 50. Também observa-se que o aumento dos coeficientes F_p e θ_p tem menor efeito na determinação do tamanho amostral, termos de número de progênes (m), do que o aumento no tamanho amostral de cada progênie (n).

Para reter o tamanho efetivo de 50, amostrando 5 plantas por progênie, será necessário conservar 20 progênies da população alvo (50/2,5), se não houver endogamia e coancestria na população de referência ($F_p = \theta_p = 0$), 21 progênies se houver 10% de endogamia ($F_p = 0,1$) ou não houver endogamia mas a coancestria entre os parentais for de meios-irmãos ($F_p = 0$; $\theta_p = 0,125$) e 22 se a população tiver 10% de endogamia e coancestria de meios-irmãos ($F_p = 0,1$; $\theta_p = 0,125$). Se o tamanho amostral de cada progênie for aumentado para 50, a conservação de 15 progênies, já seria suficiente para reter o tamanho efetivo de 50, em população com até 10% de endogamia e coancestria referente a meios-irmãos. Observa-se, ainda, que com a amostragem de mais de 20 plantas por progênies, pouca eficiência é obtida em termos de redução do número de progênies necessárias para reter o tamanho efetivo alvo (50). O número de 20 plantas por progênies também tem sido recomendado como adequado para a avaliação do efeito de uma progênie em programas de melhoramento (10 a 20; Cotterill & James, 1984).

3.3 Desvios de Cruzamentos Aleatórios

O quadro mais favorável à coleta de sementes para a conservação *ex situ* ocorre quando as progênies de polinização aberta são meios-irmãos e não existe endogamia e coancestria na geração parental, visto que a coancestria entre plantas dentro de progênie atinge o valor mínimo possível (0,125) em amostras de estrutura de progênies. Entretanto, é pouco provável que progênies de polinização aberta amostradas de populações naturais sejam meios-irmãos (Namkoong, 1966; Squillace, 1974; Surles *et al.*, 1990). Autofecundações, cruzamentos dentro de pequenas vizinhanças, pequenas populações, cruzamentos biparentais e endogâmicos são esperados por aumentarem a coancestria em progênies de polinização livre acima do esperado em progênies de meios-irmãos. Desvios de cruzamentos aleatórios podem ser observados em todas as espécies listadas na TABELA 1 e para a média das espécies (TABELA 2), ou em termos de autofecundação ou em termos de cruzamentos biparentais. A taxa de cruzamento multiloco (t_m) variou de 0,558 em *Pinus martinezii* T.F. Pat. (Ledig *et al.*, 2000) a 1,0 em *Caryocar brasiliense* Camb. (Collevatti *et al.*, 2001)

e *Teobroma grandiflorum* (W. ex S.) S. (Alves *et al.*, 2003), com média de $0,913 \pm 0,015$ para folhosas, $0,842 \pm 0,052$ para coníferas e $0,897 \pm 0,017$ para arbóreas (folhosas + coníferas). A correlação de paternidade (r_p) variou de 0,035 em *Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg. (El-Kassaby *et al.*, 2003) a 0,930 em *T. grandiflorum* (Alves *et al.*, 2003), com média de $0,438 \pm 0,053$ para folhosas, $0,146 \pm 0,046$ para coníferas e $0,372 \pm 0,048$ para arbóreas. As causas desses desvios são diversas. Em espécies monóicas e hermafroditas podem ocorrer autofecundações. Extensiva propagação vegetativa e limitada dispersão de pólen e sementes podem causar estruturação genética espacial e a formação de grupos de famílias dentro das populações (Hamrick & Loveless, 1986; Surles *et al.*, 1990), e, conseqüentemente, permitir o cruzamento entre parentes. O número de árvores potencialmente polinizadoras ou o tamanho da população pode ser pequeno e os cruzamentos correlacionados podem ser inevitáveis (Surles *et al.*, 1990). Em algumas espécies, como, por exemplo, *Acacia melanoxylon* R. Br., a polinização pode ocorrer por poliandria (unidades compostas por muitos grãos de pólen), fazendo com que grande número de sementes de mesmos frutos tenham o mesmo parental paterno (Muona *et al.*, 1991). Ainda, estudos do sistema de reprodução têm revelado que cruzamentos biparentais são comuns, tanto em coníferas (El-Kassaby & Jaquish, 1996; Mitton *et al.*, 1997; Ledig *et al.*, 2001; Perry & Bousquet, 2001) como em folhosas arbóreas (Muona *et al.*, 1991; Sampson, 1998; Sebbenn *et al.*, 2000). Conseqüentemente, em espécies bissexuais (monóicas e hermafroditas) podem ser gerados até quatro diferentes tipos de coancestria nas progênies: *i*) entre dois irmãos de autofecundação (0,5); *ii*) entre um irmão de autofecundação e um cruzamento (0,25); *iii*) entre dois meios-irmãos (0,125), e *iv*) entre dois irmãos completos (0,25) (Squillace, 1974; Ritland, 1989). Por outro lado, em espécies unissexuais (dióicas) podem ser gerados dois tipos de coancestrias: *i*) entre dois meios-irmãos, e *ii*) entre dois irmãos completos. Na média das progênies, os desvios aumentam a coancestria entre plantas dentro de progênies, pelo aumento da proporção de alelos idênticos por descendência, visto que a correlação de parentesco não é mais dada somente em função do parental materno, mas também em função do paterno. Dessa forma, pode-se esperar que o tamanho amostral requerido para a conservação *ex situ* seja maior do que o esperado por cruzamentos aleatórios.

TABELA 2 – Estimativas média entre espécies (\pm erro padrão) do coeficiente de coancestria (θ) dentro de progênie e número de progênies (\hat{m}), necessárias para reter o tamanho efetivo de 50, quando 20 plantas são amostradas em cada progênie.

Média	Esp.	\hat{t}_m	\hat{r}_p	\hat{r}_s	$\hat{\theta}^*$	$\hat{\theta}^{**}$	\hat{m}^{**}
Folhosas	24	0,913 \pm 0,015	0,438 \pm 0,053	0,173 \pm 0,035	0,204 \pm 0,009	0,224 \pm 0,010	23,7 \pm 0,9
Coníferas	7	0,842 \pm 0,052	0,146 \pm 0,046	---	0,181 \pm 0,017	0,199 \pm 0,018	21,3 \pm 1,8
Arbóreas	31	0,897 \pm 0,017	0,372 \pm 0,048	0,173 \pm 0,031	0,198 \pm 0,008	0,218 \pm 0,009	23,1 \pm 0,8

Esp. = Número de espécies.

\hat{t}_m = taxa de cruzamento multiloco.

\hat{r}_p = correlação de paternidade.

\hat{r}_s = correlação de autofecundação.

(*) Estimado assumindo ausência de endogamia e coancestria ($F_p = \theta_p = 0$).

(**) Estimado assumindo moderados níveis de endogamia e coancestria ($F_p = 0,1$; $\theta_p = 0,125$).

3.4 Coancestria e Tamanho Amostral em Progênies de Polinização Aberta

O coeficiente de coancestria (θ) estimado para as espécies foi superior ao esperado pelas pressuposições de cruzamentos aleatórios ou, superior ao esperado em progênies de meios-irmãos, 0,125 (TABELAS 1 e 2). Admitindo ausência de endogamia e coancestria ($F_p = \theta_p = 0$) na população alvo da amostra, o coeficiente θ variou nas folhosas de 0,145 (*Caryocar brasiliense* e *Hymenaea coubaril*) a 0,306 (*Euterpe edulis*), com média de $0,204 \pm 0,009$. Nas coníferas o coeficiente de coancestria variou de 0,147 (*Picea mariana* e *Tsuga heterophylla*) a 0,275 (*Pinus martinezii*), com média de $0,181 \pm 0,017$. Para a média das espécies arbóreas (folhosas + coníferas) o coeficiente médio de coancestria foi de $0,198 \pm 0,008$. A coancestria média nas espécies folhosas, coníferas e arbóreas, em termos relativos ao esperado em progênies de meios-irmãos, é 39%, 31% e 37% superior, respectivamente. Estes valores estão mais próximos do esperado em progênies de irmãos-completos (0,25) do que de meios-irmãos (0,125), como é algumas vezes assumido em genética quantitativa, no estudo da herança de caracteres quantitativos, em progênies de polinização aberta.

Isto reforça que assumir progênies de polinização aberta como meios-irmãos resulta em superestimativas na variância genética aditiva, herdabilidades e ganhos na seleção (Namkoong, 1966; Squillace, 1974; Surles *et al.*, 1990; Muona *et al.*, 1991; Sebbenn *et al.*, 2002).

Em termos de conservação, a alta coancestria observada na média das espécies implica que a amostragem de progênies de polinização aberta, assumindo progênies de meios-irmãos, gera subestimativa no tamanho amostral e, portanto, maiores amostras devem ser retidas. O número de progênies necessárias para conservar um determinado tamanho efetivo alvo depende: *i*) do número de plantas conservadas em cada progênie; *ii*) do coeficiente de coancestria e endogamia da população que será amostrada, e *iii*) da taxa de cruzamento, correlação de paternidade e variação na taxa de cruzamentos entre plantas, do evento reprodutivo que deu origem as progênies a serem conservadas. Admitindo razoáveis níveis de endogamia ($F_p = 0,1$) e coancestria referente a meios-irmãos ($\theta_p = 0,125$) na população de referência (população de coleta das sementes), que serão conservadas pelo menos 20 plantas por progênie (n) e que a meta da conservação é reter o tamanho efetivo de 50, nas coníferas seria necessário reter de 17 (*P. mariana* e *T. heterophylla*) a 32 (*P. martinezii*) progênies, com média de 22 progênies (TABELA 2).

Contudo, o número de espécies coníferas utilizadas para determinar estes tamanhos amostrais é pequeno e não representa a diversidade de espécies que compõe a classe. Seis das sete coníferas apresentaram taxa de cruzamento alta ($> 0,8$) e baixa correlação de paternidade ($< 0,2$) e uma, *P. martinezii* R. (Ledig *et al.*, 2000), apresentou uma das mais baixas taxas de cruzamento observada em coníferas, juntamente com *Thuja occidentalis* L., 0,510 (Perry & Knowles, 1991) e *Pinus merkusii*, 0,467 (Changtragoon & Finkeldey, 1995). *P. martinezii* também apresentou maior correlação de paternidade indicando que 38,9% das progênies de cruzamento são irmãos-completos (Ledig *et al.*, 2000).

Nas espécies folhosas, assumindo 10% de endogamia ($F_p = 0,1$) e coancestria de meios-irmãos ($\theta_p = 0,125$) na população alvo da coleta das sementes, os resultados indicam que, retendo 20 plantas por progênie, seriam necessárias conservar de 17 (*Caryocar brasiliense* Camb.) a 35 progênies (*Euterpe edulis* Mart.), com média de 24 progênies (TABELA 2), para reter o tamanho efetivo de 50.

Para reter maiores tamanhos efetivo são necessários outros tamanhos amostrais. A FIGURA 4 apresenta os tamanhos amostrais necessários para reter o tamanho efetivo de 50, 100 e 150, para os exemplos listados na TABELA 1, assumindo que 20 plantas serão conservadas por progênie e moderados níveis de endogamia ($F_p = 0,1$) e coancestria ($\theta_p = 0,125$) na população alvo da coleta de sementes. Observa-se que a conservação de 35, 70 e 100 progênies, é suficiente para cobrir toda a variação detectada nos tamanhos amostrais requeridos para reter os tamanhos efetivos de 50, 100 e 150, respectivamente, tanto em espécies folhosas como em coníferas.

Finalmente, o tamanho amostral de 35 progênies é superior ao número de 25 progênies recomendado internacionalmente para fins de conservação genética (Graudal *et al.*, 1997) e poderia, em 23% dos exemplos, ser mais eficiente do que este, em termos de amostragem para a conservação genética, cobrindo toda a variação no tamanho amostral observado entre as espécies utilizadas como exemplo.

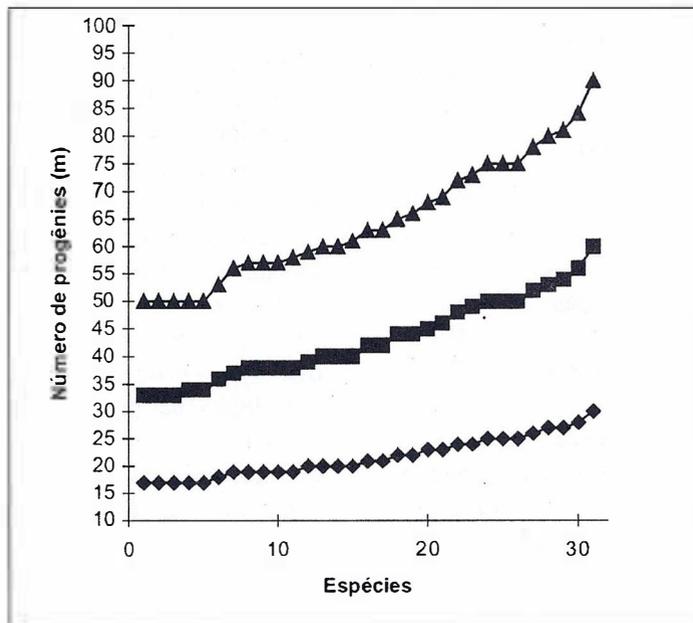


FIGURA 4 – Plote do número de progênies (m) necessárias para reter o tamanho efetivo de 50 (-◆-), 100 (-■-) e 150 (-▲-) de populações naturais com 10% de endogamia ($F_p = 0,1$) e coancestria referente a meios-irmãos ($\theta_p = 0,125$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. *et al.* Mating system in natural populations of *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Shumm. **Molecular Genetics and Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p. 373-379, 2003.
- BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Fine-scale genetic structure of a turkey oak forest. **Evolution**, Lawrence, v. 49, n. 1, p. 110-120, 1995.
- BURCKYC, J.; ADAMS, W. T.; SHIMIZU, J. Y. Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon.) stand. **Heredity**, Lund, v. 77, p. 251-260, 1996.
- _____; PRAT, D. Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: the effects of spatial structure and flowering characteristics. **Heredity**, Lund, v. 79, p. 638-647, 1997.
- BURROWS, G. E. Seed production in woodland and isolated trees of *Eucalyptus melliodora* (yellow box, Myrtaceae) in the South Western Slopes of New South Wales. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 681-685, 2000.
- BUTCHER, P. A.; WILLIAMS, E. R. Variation in outcrossing rates and grown in *Eucalyptus camaldulensis* from the Petford Region, Queensland; evidence of outbreeding depression. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 65-72, 2002.
- CABALLERO, A. Developments in the prediction of effective population size. **Heredity**, Lund, v. 73, p. 657-679, 1994.
- CHANGTRAGOON, S.; FINKELDEY, R. Patterns of genetic variation and characterization of the mating system of *Pinus merkusii* in Thailand. **Forest Genetics**, Svolen, v. 2, n. 2, p. 87-97, 1995.
- CHUNG, M. G.; CHUNG, J. M.; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms within populations of *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 48, n. 5, p. 223-227, 1999.
- _____; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms in a populations of *Eurya japonica* (Theaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2000.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Lawrence, v. 23, p. 72-84, 1969.
- COLES, J. F.; FOWLER, D. P. Inbreeding in neighboring trees in two White Spruce populations. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 25, n. 1, p. 29-34, 1976.
- COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliensis*, an endangered tropical tree species. **Heredity**, Lund, v. 86, p. 60-67, 2001.
- COTTERILL, P. P.; JAMES, J. W. Number of offspring and plot sizes required for progeny testing. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 33, n. 6, p. 203-209, 1984.
- EL-KASSABY, Y. A.; JAQUISH, B. Population density and mating pattern in Wester Larch. **Journal of Heredity**, Cary, v. 87, p. 438-443, 1996.
- _____; DUNSWORTH, B. G.; KRAKOWSKI, J. Genetic evaluation of alternative silvicultural systems in coastal montane forests: western hemlock and amabilis fir. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, p. 598-610, 2003.
- ERIKSSON, G. A policy suggestion for conservation of Noble Hardwoods genetic resources in Sweden. In: TUTOCK, J. *et al.* (Comp.). **Noble Hardwoods Network**: report of the first meeting, 24-27 March 1996, Escherode, Germany. Rome: International Plant Resources Institute, 1996. p. 147-154.
- FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.
- FRANKLIN, I. A. Evolutionary change in small populations. In: SOULÉ, M. E.; WILCOX, B. A. **Conservation biology**: an evolutionary-ecological perspective. Sunderland: Sinauer Associates, 1980. p. 135-150.
- FUCHS, E. J.; LOBO, J. A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation in flowering phenology in the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation biology**, San Francisco, v. 17, p. 149-157, 2003.
- GAIOTTO, F. A. **Inferência sobre herança quantitativa e estrutura genética em populações naturais de *Euterpe edulis* Mart. utilizando marcadores microsatélites**. 2001. 122 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- GIUDICE NETO, J. D.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Machaerium villosum* Vog. (Leguminosae) na região de Moji-Guaçu, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 207-215, 2000.
- GÖMÖRY, D.; PAULE, L. Spatial and microgeographical genetic differentiation of black alder (*Alnus glutinosa* Gaertn.) populations. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 160, p. 4-9, 2002.
- GRAUDAL, L. *et al.* **Planning national programmes for conservation of forest genetic resources**. Humlebaek: Danish International Development Agency - DANIDA, Forest Seed Center, 1997. 58 p. (Technical Note, 48).
- GUSSON, E. **Uso e diversidade genética em populações naturais de biriba (*Eschweilera ovata* [Cambress.] Miers): subsídios ao manejo e conservação da espécie**. 2003. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agrossistemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of plant populations. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H. (Ed.). **Frugivores and seed dispersal**. Athens: Junk Publishers, 1986. cap. 17, p. 124-145.
- KAGEYAMA, P. Y. *et al.* Diversidade genética em espécies arbóreas modelo da floresta tropicais atlântica por diferentes marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 93-107, 2003.
- KHASA, P. D.; CHELIAK, W. M.; BOUSQUET, J. Genetic variation in 26 populations of *Racosperma auriculiformes* and *Racosperma mangium* using allozymes. **Canadian Journal Forest Resources**, Edmonton, v. 24, p. 1123-1132, 1994.
- LEE, S. L. Mating system parameters of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. f. (Dipterocarpaceae) in three different forest types and a seed orchard. **Heredity**, Lund, v. 85, p. 338-345, 2000.
- LEDIG, F. T. *et al.* Evidence for an extreme bottleneck in a rare Mexican piñon genetic diversity, disequilibrium and the mating system in *Pinus maximartinezii*. **Evolution**, Lawrence, v. 53, n. 1, p. 91-99, 1999.
- LEDIG, F. T. *et al.* The mating system and genetic diversity in Martínez spruce, an extremely rare endemic of Mexico's Sierra Madre Oriental: an example of facultative selfing and survival in interglacial refugia. **Canadian Journal Forest Research**, Edmonton, v. 30, p. 1156-1164, 2000.
- LEDIG, F. T. *et al.* Genetic diversity and the mating system of a rare Mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 88, n. 11, p. 1977-1987, 2001.
- LINDGREN, D.; GEA, L.; JEFFERSON, P. Loss of genetic diversity by status number. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, p. 52-59, 1996.
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. 1st ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998.
- MILLAR, M. A. *et al.* Mating system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 475-479, 2000.
- MITTON, J. B.; LATTA, R. G.; REHFELDT, G. E. The pattern of inbreeding in washoe pine and survival of inbreed progeny under optional environmental conditions. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 46, n. 4, p. 215-219, 1997.
- MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Correlated mating in two natural populations of a dioecious species, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Forest Genetics**, Svolen, 2003. (submetido).
- MORAES, P. L. R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees (Lauraceae)**. 1997. 190 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro.
- MUONA, O.; MORAN, G. F.; BELL, J. C. Hierarchical patterns of correlated mating in *Acacia melanoxylon*. **Genetics**, Baltimore, v. 127, p. 619-626, 1991.
- MURAWSKI, D. A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K. S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forest. **Biotropica**, Lawrence, v. 26, n. 1, p. 23-29, 1994.

- NAMKOONG, G. Inbreed effects on estimation of genetic additive variance. **Forest Science**, Washington, v. 12, p. 8-13, 1966.
- OLIVEIRA, V. R. **Diversidade genética em populações de algaroba [(*Prosopis juliflora*) (S.W.) D.C.] na região semi-árida do Nordeste brasileiro**. 1999. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- O'MALLEY, D. M. *et al.* Genetic of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). 2. Mating system. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 76, p. 929-932, 1988.
- PERRY, D. J.; BOUSQUET, J. Genetic diversity and mating system of post-fire and post-harvest black spruce: an investigation using codominant sequence-tagged-site (STS) markers. **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 31, p. 32-40, 2001.
- _____; KNOWLES, P. Spatial genetic structure within three Sugar Maple (*Acer saccharum* Marsh.) stands. **Heredity**, Lund, v. 66, p. 137-142, 1991.
- RIBAS, L. A. **Variabilidade isoenzimática e sistema de cruzamento de *Parapiptadenia rigida* em um pomar de sementes**. 1999. 90 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- _____. **Diversidade genética e sistema de cruzamentos em populações naturais de duas espécies de pioneiras arbóreas**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989.
- _____; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, Lund, v. 47, p. 35-52, 1981.
- ROCHA, O. J. R.; AGUILAR, G. Variation in the breeding behavior of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 9, p. 1600-1606, 2001.
- SAMPSON, J. F. Multiple paternity in *Eucalyptus rameliana* (Myrtaceae). **Heredity**, Lund, v. 81, p. 349-355, 1998.
- _____; HOPPER, S. D.; JAMES, S. H. The mating system and genetic diversity of the Australian Arid Zone Mallee, *Eucalyptus rameliana*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 43, p. 461-474, 1995.
- SANTOS, J. D. **Estudo ecológico e genético numa paisagem fragmentada visando sua conectividade, no Pontal do Paranapanema-SP**. 2002. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- 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.
- SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 25-40, 2000.
- SEBBENN, A. M. *et al.* Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 93-113, 2001.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; ZANATTO, A. C. S. Estimativas de ganhos genéticos na seleção em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze, incorporando informações do sistema misto de reprodução. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 65-77, 2002.
- SEOANE, C. E. C.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema reprodutivo em populações de *Esenbeckia leiocarpa*. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 19-26, 2001.
- SHEA, K.; FURNIER, G. R. Genetic variation and population structure in central and isolated populations of Balsam Fir, *Abies balsamiae* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 5, p. 783-791, 2002.

SCHUSTER, W. S. F.; MITTON, J. B. Relatedness within cluster of a bird-dispersed pine and the potential for kin interactions. **Heredity**, Lund, v. 67, p. 42-48, 1991.

SOUZA, L. M. I.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em *Chorisia speciosa*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 113-121, 2003.

SQUILLACE, A. E. Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, p. 149-156, 1974.

SUN, M.; RITLAND, K. Mating system of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*), a successful colonizer in North America. **Heredity**, Lund, v. 80, p. 225-232, 1998.

SURLES, S. E. *et al.* Genetic relatedness in open-pollinated families of two leguminous tree species, *Robinia pseudoacacia* L. and *Gleditsia triacanthos* L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 80, p. 49-56, 1990.

VENCOVSKY, R. Biometrical approaches for molecular marker estimation of effective population size. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL WORKSHOP ON AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1997. p. 233-234.

YANCHUK, A. D. A quantitative framework for breeding and conservation of forest tree genetic resources in British Columbia. **Canadian Journal of Forestry Research**, Edmonton, v. 31, p. 566-576, 2001.